

# **Université des Antilles et de la Guyane**

## **Faculté des Sciences de la vie**

### **École doctorale pluridisciplinaire :**

#### **Santé, Environnement et Sociétés dans les Amériques**

Thèse pour le doctorat en **Sciences de la vie**

BONNET- BRUNO Christelle

*Valorisation de la banane Cavendish FWI, à différents stades physiologiques de récolte pour l'obtention par procédés de chimie verte de molécules d'intérêt biologique impliquées dans des activités anti-ulcères et cardiovasculaires*

Sous la direction du Professeur Abel HIOL

Soutenue le 14 Septembre 2012, à Pointe-à-Pitre

Jury :

**Farid CHEMAT**, Professeur, Université d'Avignon et des pays de Vaucluse, Rapporteur

**Jean Stéphane CONDORET**, Professeur, Laboratoire de génie chimique INP-ENSIACET de Toulouse, Rapporteur

**Abel HIOL, Professeur**, IUT Génie Biologique, Université Antilles Guyane, Directeur de la thèse

**Didier MBEGUIE**, Docteur -Chercheur UMR 95, CIRAD Guadeloupe, Station Neufchâteau

**Dominique PALLET**, Docteur -Chercheur, Directeur adjoint UMR 95, CIRAD Montpellier

**Patrick POUCHERET**, Docteur en pharmacologie, Faculté de pharmacie Montpellier UM1

**Sylvie RAVION**, Maître de conférence, IUT Génie biologique, Université Antilles Guyane

**Max REYNES**, Docteur- Chercheur, UMR 95, CIRAD Costa RICA

*Je dédie ce travail à ma filleule Tess et plus particulièrement à ma  
fille Noa, puissent t-elles toutes deux y trouver une force  
d'inspiration et une source de ténacité et de persévérance à laquelle  
s'abreuver ...*

## **Remerciements**

*Les travaux présentés dans cette thèse ont été menés au sein du laboratoire de pharmacologie et de physiopathologie expérimentale et sur deux sites du Centre de coopération internationale en recherche pour le développement (CIRAD), et plus particulièrement sur les sites de Montpellier et de Capesterre-Belle-Eau (Guadeloupe) de l'unité mixte de recherche QUALISUD.*

*Je tiens donc à remercier tous ceux que j'ai pu côtoyer dans ces laboratoires et qui m'ont apporté leur soutien scientifique, technique. Je pense plus précisément à Max Reynes (de tout cœur, merci!), Dominique Pallet, Patrick Poucheret, Didier Mbeguié, (merci à vous d'y avoir cru et de m'avoir permis de concrétiser aujourd'hui ces travaux). Un grand merci à Olivier Hubert, Philippe Destrac, Alec Manaury pour leur soutien scientifique/ technique. Merci également à Marie Morère, au Dr. Audrey Devatine, au Dr. Souhila Ghidouche, qui sont devenues de véritables amies et confidentes, au fil du temps.*

*Merci à tous d'avoir nourri en moi le germe d'une passion : la passion pour la Recherche scientifique.*

*J'adresse mes remerciements à Madame la Présidente de l'école doctorale et à Monsieur le Président de l'université Antilles Guyane, d'avoir accepté la délocalisation de certains des travaux de la thèse dans des laboratoires en France métropolitaine.*

*Cette thèse ne saurait exister sans le soutien infaillible du Pr. Abel Hiol, un directeur de thèse qui a toujours été et est toujours resté présent à mes côtés, pour me conseiller et m'orienter. Mes questions de tout ordre ont toujours eu un écho positif à ses oreilles et je l'en remercie.*

*Merci également d'avoir accepté cette mission de direction de la thèse et de l'avoir remplie avec brio. Je le remercie plus particulièrement pour la pertinence de ces remarques, son encadrement scientifique mais aussi humain, sa sincérité.*

*Merci également au Dr. Sylvie Ravion pour nos échanges, au Dr Olivier Ravion pour son initiation à Anova.*

*Je remercie également l'entreprise que je viens d'intégrer en tant que Responsable de Développement Ingrédients Santé/Innovation pour m'avoir permis d'agencer les premiers mois mon emploi du temps afin de finaliser ce travail de recherche long et parfois difficile dans sa gestion mais tellement enrichissant et stimulant.*

*Je remercie le Pr Jean- Stéphane Condoret, le Pr Farid Chemat d'avoir accepté de juger mon travail et de faire partie de ce jury. Merci à tous deux pour votre intérêt.*

*Merci également à tous les autres membres du jury d'avoir acceptés de former ce jury.*

*Pour finir, j'adresse mes remerciements à ma famille, celle dans laquelle j'ai tout d'abord grandi et celle que j'ai, à mon tour, construite. Je remercie plus particulièrement mon père pour son travail de veille et son intérêt pour le sujet, ma mère pour ses bons conseils, son soutien spirituel, mon époux, Frédéric pour sa patience, quelques aient été les difficultés, ma jumelle Murielle pour sa présence à travers ce lien indestructible et fort qui nous lie, mon beau-frère Silvère pour son écoute, mon frère, pour sa présence discrète. Je vous remercie tous, pour m'avoir soutenu pendant toute cette période.*

*O combien, merci à ma fille, Noa, qui pas plus haute que 2 pommes, a su gérer au mieux l'absence hebdomadaire de sa maman. Merci à elle pour son amour infailible.*

*Merci encore à mes parents pour l'éducation qu'ils m'ont donnée et qui m'a permis d'être armée pour cette aventure, certes, ardue parfois mais au contenu scientifique ô combien réjouissant.*

*Also many thanks to all the amazing people, who helped me in different ways, with this PhD!  
Thank you God!*

*Thanks to all of you !*

## Résumé

La banane-dessert est la première production mondiale fruitière, devant les raisins et l'orange. Près de 100 pays produisent des bananes et plus de 1200 espèces existent.

En ce qui concerne les Antilles françaises, la banane-dessert, du sous-groupe Cavendish, est la première production agricole d'exportation. En 2001, 330 000 tonnes ont été exportées. Elles représentaient environ 40% de la production totale agricole antillaise.

Devant les difficultés croissantes de commercialisation de la production antillaise sur les marchés de prédilection européens, liées à la concurrence de la banane des pays tiers sur ces mêmes marchés (Marchal, 1993), il est intéressant de rechercher des voies de valorisation de la production agricole par sa transformation et sa valorisation à travers des molécules créditées de propriétés biologiques. Il s'agit également de pouvoir valoriser les écarts de triage (15-20% de la production) qui résultent des critères de qualité très stricts appliqués pour que la banane antillaise Cavendish reste compétitive face à la banane dollar, dans le circuit de commercialisation. La banane dollar est le nom donné aux petits producteurs indépendants, essentiellement en Amérique du Sud, approvisionnant des multinationales de la banane dans un rapport de force défavorable.

Par ailleurs, nous ne saurions parler de nutri-fonctionnalités ou d'intérêt biologique sans évoquer les procédés permettant d'extraire ces composés actifs (polyphénols, stérols, amidon, et en particulier, l'amidon résistant).

Nos travaux ont permis d'étudier l'effet combiné de la maturation, du mûrissement et des périodes climatiques, sur le profil des composés bioactifs de la banane Musa Cavendish, issus des French West Indies (FWI).

La teneur en polyphénols des bananes 400 Degrés Jour (dj) est restée inchangée, tandis que les bananes 600 et 900 dj ont présenté une augmentation significative de leurs teneurs en polyphénols pendant la maturation ( $p < 0,05$ ). En outre, les résultats ont également montré que, bien que la dopamine ait été déterminée comme étant le polyphénol le plus élevé dans la peau de bananes pendant le stade vert de développement et la maturation, sa cinétique différait du profil observé pour celle des polyphénols totaux. Les facteurs post-récolte ont été optimisés. L'ensemble de nos résultats ont montré que la sélection d'une matrice de choix tenant compte de la maturation, du mûrissement et du climat permettait d'atteindre un statut optimal de Musa Cavendish pour des concentrations optimales en composés identifiés pertinents pour la santé humaine. C'est effectivement le cas des concentrations de dopamine, médiateur vasoactif, dépendantes des stades physiologiques, du mûrissement et climat. Nos travaux ont ainsi démontré que le totum de banane présentait un effet contracturant dose dépendant sur l'aorte moins puissant que celui enregistré pour les composés de référence à concentrations plus faibles mais toutefois significatifs. Dans les mêmes conditions, il a été démontré que la prazosine modifie l'effet contracturant de la banane en l'inhibant de manière compétitive. Le récepteur alpha-1 adrénergique vasculaire joue un rôle dans les effets vasoconstricteurs de la banane.

## Abstract

The dessert banana is the first world production of fruit, before the grapes and oranges. Nearly 100 countries produce bananas and more than 1200 species exist.

Regarding the French West Indies, the dessert banana, the Cavendish subgroup, is the leading export crop production. In 2001, 330,000 tons were exported. They represented about 40% of the total agriculture.

In front of the increasing difficulties related to banana competition from third countries to commercialize the French West Indies production on the European market, (Marchal, 1993), it is interesting to look for paths of development of agricultural production by its transformation and its enhancement through the biological properties of molecules. It also can enhance the grading discrepancies (15-20% of production) which result from very strict quality criteria applied for the Caribbean banana Cavendish to remain competitive against the dollar bananas in the marketing chain. Dollar bananas is the name given to small independent producers, mainly in South America, supplying multinational banana companies in an unbalanced power. Moreover, we cannot speak about nutrition or functionalities or biological interest without mentioning the processes to extract the active compounds (polyphenols, sterols, starch, and in particular, resistant starch).

The combined influence of maturation, ripening and climate periods on French West Indies (FWI) bananas, *Musa Cavendish*, bioactive compounds profile was studied.

The polyphenol content of the 400 dd bananas remained unchanged, while the 600 and 900 dd bananas exhibited a significant polyphenol increase during ripening ( $p < 0.05$ ). Furthermore, the results showed that although dopamine was determined as the highest polyphenol in the banana peels during the green developmental stage and ripening, its kinetic differed from the total polyphenol profile. Together our results showed that this matrix of choice (maturation, ripening and climate may allow selection of *Musa Cavendish* status for optimal concentration in identified compounds with human health relevance.

Indeed, this is the case of dopamine, a vasoactive mediator, which is dependent on physiological stages, ripening and climate. Thus, our work has demonstrated that the banana totum showed a dose-dependent contracture effect on aortic which was less powerful than the one recorded for reference compounds at lower concentrations. Nevertheless it was significant. In the same conditions, it was demonstrated that prazosin modifies the effect of banana contracture inhibiting it competitively. Receptor alpha-1 adrenergic vascular plays a role in the vasoconstrictor effects of bananas.

# Table des matières

<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>10</b>
-----------------------------------	-----------

<b>PARTIE 1 – ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>15</b>
--	-----------

<b>Chapitre 1 – Généralités sur les Musaceae.....</b>	<b>16</b>
---	-----------

1. Origine et diversité génétique des bananiers.....	16
1.1 Origine.....	16
1.2 Classification des bananiers.....	16
2. Physiologie du bananier.....	19
2.1 Appareil végétatif.....	19
2.1.1 Le système souterrain.....	19
2.1.2 Les feuilles.....	20
2.1.3 Les organes de la reproduction.....	20
2.1.3.1 Les fleurs.....	20
2.1.3.2 Le fruit.....	20
a- Maturation d'un fruit climactérique.....	21
2.2 Physiologie du bananier.....	24
2.2.1 Le mode de reproduction.....	24
2.2.2 Le cycle végétatif.....	24
2.2.3 La biologie florale.....	25
2.2.3.1 La floraison femelle et la fructification.....	25
2.2.3.2 La floraison mâle.....	25
2.3 Variété Cavendish.....	26
2.3.1 Morphologie du fruit du bananier triploïde AAA, Cavendish.....	26
2.3.2 Développement physiologique du fruit Cavendish.....	27
3. Utilisations de la banane.....	27
3.1 Usages traditionnels et artisanaux de la banane.....	27
3.2 Usages industriels de la banane.....	29
3.2.1 Farines et poudres de bananes en production industrielle.....	29
3.2.1.1 Farines de bananes vertes.....	29
3.2.1.2 Poudres de bananes mûres.....	29
3.2.2 Le sucre de banane.....	29
3.2.3 Les chips de banane.....	30
3.3 Usages du bananier et de ses différentes parties.....	30

<b>Chapitre 2 – Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques de Musa.....</b>	<b>31</b>
---	-----------

1. Caractérisation du péricarpe des bananes.....	31
1.1 Couleur de la peau.....	32

1.2 Structure cellulaire de la peau.....	32
1.3 Composition biochimique de la peau.....	33
2. Caractérisation de la pulpe des bananes (ou endocarpe).....	35
2.1. Composés aromatiques volatiles de la pulpe.....	36
2.2. Structure cellulaire de la pulpe ou endocarpe.....	37
2.3. Composition biochimique de la pulpe.....	37
2.3.1. Généralités.....	37
2.3.2. Les glucides.....	39
2.3.2.1. L'amidon.....	39
2.3.2.2. La taille des granules d'amidon.....	39
2.3.2.3. L'amidon résistant des bananes.....	41
2.3.3. Les protéines.....	42
2.3.3.1. Les acides aminés.....	42
2.3.3.2. Les amines : sérotonine, dopamine et norepinephrine.....	42
2.3.4. Les lipides.....	43
2.4. Evolution de la composition du fruit au cours du mûrissement.....	46
2.5. Impact des saisons.....	47

### **Chapitre 3 - Les molécules d'intérêt Santé au sein de Musa.....48**

1. Les composés phénoliques.....	48
1.1. Généralités.....	48
1.2. Classification es composés phénoliques.....	48
1.3. La dopamine, un composé phénolique simple.....	50
1.4. Les flavonoïdes.....	50
1.4.1 Généralités.....	50
1.4.2 Biosynthèse des flavonoides.....	51
1.4.3 Structure et classification.....	52
1.4.4 Les catéchines, un flavonol, une sous-classe des flavonoïdes.....	55
1.4.5 Les leucocyanidines.....	56
1.5 Les tanins.....	56
1.5.1 Les tanins hydrolysables.....	56
1.5.2 Les tanins condensés.....	57
2. Les phytostérols.....	58
2.1 Les stéryls glucosides.....	58
2.1.1. Les sitoindosides IV.....	59
3. L'amidon résistant.....	60
3.1 L'amidon résistant type R1.....	62
3.2 L'amidon résistant type R2.....	62
3.3 L'amidon résistant type R3.....	62
3.4 L'amidon résistant type R4.....	64

### **Chapitre 4 – Evaluation des activités biologiques au sein de Musa.....65**

1. Stress oxydant.....	65
1.1. Les radicaux libres.....	65
1.2. Les systèmes de défense contre l'oxydation.....	65
1.2.1 Les antioxydants liposolubles.....	66



1.2.2 Les antioxydants hydrosolubles.....	66
1.2.3 Les antioxydants polyphénoliques.....	66
2. Impact des polyphénols sur la santé, prévention des désordres métaboliques.....	68
2.1 Le métabolisme des polyphénols.....	68
2.2 Les applications santé des polyphénols.....	68
3. Prévention de l'ulcère gastro-intestinal.....	69
3.1. Cytoprotection avec la leucocyanidine.....	69
3.2 Cytoprotection avec les sitoindosides.....	72
3.3 Cytoprotection de la muqueuse gastrique avec l'amidon résistant.....	72

## **Chapitre 5 – Méthodes d'extraction des composés actifs.....73**

1. Extraction au soxhlet.....	73
2. Technologie innovante d'extraction, le fluide supercritique.....	73
2.1 Historique.....	73
2.2 Propriétés des fluides supercritiques.....	74
2.3. Les fluides supercritiques couramment utilisés.....	77
2.3.1. Le dioxyde de carbone.....	77
2.3.2. L'eau.....	78
2.3.3. le méthanol.....	78
2.3.4. Les hydrocarbures.....	78
2.3. Applications des fluides supercritiques.....	79
2.4. Extractions de matières végétales par CO2 supercritique.....	80
2.5. Solubilité des produits naturels dans le CO2 supercritique.....	80
2.5.1. Facteurs affectant le taux d'extraction.....	81
2.5.2. Addition de co-solvant.....	81
2.5.3. Pré-traitement de la matière végétale.....	81
2.5.4. Direction de l'écoulement du fluide dans le lit fixe d'extraction.....	81
2.6. Avantages à l'utilisation du CO2 supercritique.....	82
3. Flash détente.....	82
3.1 Fonctionnement.....	83

## **PARTIE 2 – LES RESULTATS .....84**

### **Chapitre 1 – Les stades physiologiques de récolte des bananes Cavendish FWI et évaluation de nutrifonctionnalités .....85**

1. Echantillonnage.....	85
2. Publication : Stades physiologiques de récolte et caractérisation nutri-fonctionnelle de bananes Cavendish FWI.....	87

<b>Chapitre 2 – Evaluation quantitative des procédés sur les teneurs en molécules nutrionnelles .....</b>	<b>120</b>
1 – Extraction au CO2 supercritique.....	120
1.1 Matériels et méthodes.....	120
1.1.1- Descriptif du pilote expérimental d'extraction au CO2 supercritique.....	120
1.1.2- Protocole expérimental.....	122
1.1.2.1 Configuration du pilote.....	122
1.1.2.2 Mise en route d'une manipulation.....	122
1.1.2.3 Récupération.....	122
1.1.3 Préparation et analyse des différentes matières premières.....	123
1.1.3.1 Les bananes.....	123
1.1.3.2 Mesures complémentaires.....	124
1.1.3.2.1Détermination du taux d'humidité de la matière végétale..	124
1.1.3.2.2Dosage du matériel végétal.....	124
1.2. Etude de l'extrait brut.....	126
1.2.1 Effets du conditionnement de la matière végétale .....	126
1.2.1.1 Etude préliminaire : état frais, séché, lyophilisé, congelé.....	126
1.2.2 Effets du conditionnement et de la taille des particules en extraction au CO2 supercritique.....	130
1.2.3 Effets du mûrissement des fruits.....	131
2 – Flash détente (FD).....	134
2.1- Matériels .....	134
2.1.1 Descriptif du pilote de flash détente.....	134
2.1.2 Préparation de la matière première.....	134
2.2 – Extraction et libération des métabolites par flash détente.....	136
2.2.1 Récupération des exsudats et broyats après FD.....	139
2.2.2 Dosage des polyphénols totaux et vitamine C par le réactif de Folin-Ciocalteu.....	140

<b>Chapitre 3 – Evaluation qualitative des procédés sur les teneurs en molécules nutrionnelles.....</b>	<b>144</b>
---	------------

1- Evaluation de l'activité cardiovasculaire d'extraits de bananes Cavendish traités par FD.....	144
2- Evaluation de l'activité anti-ulcère sur bananes Cavendish FWI et en fonction des stades physiologiques de récolte et du procédé d'extraction (soxhlet, macération).....	149

<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>164</b>
---	------------

<b>REFERENCES.....</b>	<b>177</b>
------------------------	------------

## Table des figures

**Figure 1** – Evolution des principaux groupes génomiques de la série Eumusa (Jones, 2000) W : sauvage (Wild type ).

**Figure 2** - Représentation de l'organisation du bananier et de ses rejets (Champion, 1963)

**Figure 3** - Index des couleurs établi selon l'échelle de la couleur de la peau (Lii et al, 1982).

**Figure 4** – Analyse des principaux composants des composants aromatiques au sein de la banane (Cav : Cavendish ; Fray : Frayssinette ; Plan : plantain) (Aurore, 2011)

**Figure 5** - Photographie de grains d'amidon de bananes plantains vertes (Zhang & Whistler, 2002).

**Figure 6** – Photographie de grains d'amidon de bananes vertes: (A) sous lumière normale; (B) sous lumière polarisée (Lii et al., 1982).

**Figure 7** – Micrographies de granules d'amidon extraits de bananes vertes Valery (A) et mûres (B) (Kayisu et al., 1981)

**Figure 8** - (à gauche) - Corrélation entre les précipitations au cours de la croissance et la fermeté des fruits mûrs. Chaque point est la moyenne de 5 répétitions. Source Bugaud, 2007

**Figure 9** - (à droite) - Corrélation entre la température moyenne journalière durant la croissance du régime et la couleur jaune (b \*) des fruits mûrs. Chaque point est la moyenne de 5 répétitions. Source Bugaud, 2007

**Figure 10** - Formule chimique de la dopamine

**Figure 11** – Synthèse des flavonoides

**Figure 12** - Squelette de base des flavonoïdes [Dean, 1963].

**Figure 13** - Classification, structure, sources alimentaires et activités antioxydantes des flavonoides exprimées en Trolox équivalent (TEAC). De fortes valeurs TEAC traduisent de fortes capacités antioxydantes. Un groupe « 3-hydroxy » libre et une structure 3\_, 4\_-catéchol (dihydroxy), une double liaison 2-3 et un groupe 4-oxo dotent le flavonoïde d'une activité supérieure aux isoformes dépourvues de ces fonctions. Une substitution glycosidique diminue la valeur TEAC (Kelly 2002).

**Figure 14** - Famille des flavonoides

**Figure 15** - Structure de d'autres types de flavonoïdes

**Figure 16** – Structure des catéchines

**Figure 17** - Effets d'extraits de bananes sur l'oxydation des lipides. Des extraits de pulpe de banane (1 mg/ml; pulp), 1 mg/ml d'extraits de peau de bananes (peel), 0.5 mM d'acide gallique (gallic

acid), et de l'eau distillée (control) ont été utilisés pour l'essai antioxydant. Les temps d'incubation sont comparés à 0.3 d'absorbance (500 nm), (Someya et al, 2002).

**Figure 18** - Formule chimique de la leucocyanidine (3,3', 4,4', 5, 7- hexahydroxyflavan))

**Figure 19** - Structures fondamentales des tanins hydrolysables

**Figure 20** - Les molécules monomères de tanins condensés (d'après Diouf 2003)

**Figure 21**- Structures des 1-3 steryl glucosides identifiés dans différentes fractions morphologiques de *M. acuminata* Colla var Cavendish (Oliveira et al., 2005)

**Figure 22** - Structure de la molécule de sitoindoside IV (Oliveira et al., 2005)

**Figure 23** – Cristallisation de l'amidon

**Figure 24** – Méthode Englyst pour évaluation de l'amidon résistant type 3

**Figure 25** – Routes pour les polyphénols et leurs métabolites, chez l'homme

**Figure 26** – La couche laminaire de l'estomac des rats contrôles a été colorée avec de l'éosine haemotoxyline et du bleu alcian. A noter la couleur bleu alcian sur la surface de l'épithélium et sur la portion superficielle de la muqueuse (apical) (X162).

**Figure 27** – Muqueuse des rats traités à l'aspirine. A noter l'insuffisance des cellules apicales à se colorer en bleu alcian (X 162).

**Figure 28** – Micrographie montrant l'estomac des rats traités au DRBP. La coloration Bleu alcian est plus intense et s'étend aux couches cellulaires épithéliales plus profondes des cryptes. L'activité est aussi observée dans certaines zones des glandes plus profondes (X162).

**Figure 29** – Diagrammes de phases (P, V, T) d'un corps pur

**Figure 30** – Echantillonnage et procédé de mûrissement des fruits

**Figure 31** - Pilote expérimental d'extraction- Séparation SFE 200 par fluide supercritique

**Figure 32** – Appareillage Soxhlet

**Figure 33** - Influence de la quantité de CO<sub>2</sub> (20°C – 40°C) sur l'extrait brut

**Figure 34** – Evolution de la teneur en polyphénols des échantillons congelés en fonction du temps.

**Figure 35** – Influence des traitements post récolte de conservation sur la teneur en polyphénols totaux.

**Figures 36** - De haut en bas : a/ Extraction dans du MeOH peau fraîche (c x 6); b/peau congelée à -20°C (c x 18); c/ peau séchée à 50°C (c x 50); d/ peau lyophilisée (c x 20)

**Figures 37** – Influence de l'eau et de la taille des particules (broyage) sur l'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

**Figures 38** : a, b, c et d (de haut en bas) - Effets du mûrissement des fruits et rendements quantitatifs de l'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

**Figure 39** - Schéma du pilote de flash détente au Cirad Montpellier –UMR Qualisud

**Figures 40** (en haut, sans cumul et en bas, avec cumul) – Teneurs en polyphénols totaux en fonction des paramètres de broyage à l'ultra-turrax ou flash détente

# Liste des tableaux

**Tableau 1** - Classification et répartition géographique des principaux bananiers cultivés (Bakry et al., 1997)

**Tableau 2** - Indice chimique dans les peaux de fruits, en fonction des différentes variétés et des stades de maturité sur la base de valeur FAO/WHO (1990) (Emaga, 2007)

**Tableau 3** – Caractéristiques de la composition chimique et biochimique de bananas dessert et bananas plantain, à différents stades physiologiques et après transformation, pour 100 g of poids frais.

(a) Ciquel, 1993), (b) Anonymous, 1981, (c) Marriott ,1983, (d) Woolfe,1992), (e) Lassoudiere, 2007, (Aurore, 2009)

**Tableau 4** – Teneur en acides aminés, source FAO 1970.

**Tableau 5** - Les valeurs indiquées représentent des teneurs moyennes enregistrées au sein des bananes jaunes mûres. P. Waalkes (1958)

**Tableau 6** – Composés identifiés dans le dichloromethane, Extraits de pulpe et peau de bananes immature “ dends Dwarf Cavendish », après hydrolyse alcaline- Expression en mg de composé/kg de matière sèche (Oliveira, 2007)

**Tableau 7** – Composition de la partie comestible de la banane à différents stades selon la classification de la couleur de peau de (Lii, 1982)

**Tableau 8**- Classification des composés phénoliques (Marcheix, 2005).

**Tableau 9** - Classification des polyphénols selon leur structure chimique

**Tableau 10** - Les différents types d'amidons résistants (Lunn & Buttriss, 2007).

**Tableau 11** - Caractéristiques des fluides supercritiques

**Tableau 12** - Caractéristiques des bananes Cavendish – (FD : Flash détente)

# **INTRODUCTION GENERALE**

# INTRODUCTION GENERALE

La banane-dessert est la première production mondiale fruitière, devant les raisins et l'orange. Près de 100 pays produisent des bananes et plus de 1200 espèces existent (Cirad-Flhor, 2003 ; Heslop-Harrison and Schwarzacher Trude, 2007). Selon la base statistique de la Food and Agriculture Organization (FAO), en 2006, 105 millions de tonnes de bananes ont été produites : 72 millions de tonnes de bananes-dessert essentiellement du sous-groupe Cavendish et 33 millions de tonnes de plantains. Cependant, moins du cinquième de la production de banane dessert fait l'objet d'un commerce international estimé à plus de 4,9 milliards de dollars américains (Lescot et al, 2008). La banane-dessert est le fruit le plus exporté dans le monde avec 14 millions de tonnes/ an (Loeillet, 2005). C'est en valeur, le cinquième produit agricole du commerce mondial, après le café, les céréales, le sucre et le cacao (Lescot, 2006). La production et le commerce des bananes constituent, dans les pays de production des enjeux socio-économiques et politiques importants. La géographie internationale de la banane fait apparaître des flux Sud-Nord, de l'Amérique Centrale vers l'Amérique du Nord, des flux transatlantiques de l'Amérique Centrale et des Antilles vers l'Europe ; et dans une moindre mesure des flux transpacifiques, le Japon se fournissant aussi au sud des Philippines. L'Inde, le Brésil, l'Equateur, les Philippines, la Chine et l'Indonésie se partagent 55% de la production mondiale totale, mais l'Inde et le Brésil n'interviennent pratiquement pas dans le commerce mondial (Lassoudière, 2007).

On distingue deux grands modes de production. D'une part, on a une filière en monoculture, de type agro-industriel, sans rotation, qui fait appel à de nombreux intrants, et dont les fruits sont destinés à l'exportation. Les bananiers sont plantés de 900 à 2000 plants à l'hectare. Les rendements en fruits peuvent atteindre 50 à 70 tonnes/an. D'autre part, on distingue une filière en polyculture qui exploite une multitude de cultivars, adaptés à différentes situations culturales. Les systèmes de production ne font généralement pas appel aux intrants. La production est destinée à l'approvisionnement des marchés locaux. Les rendements sont faibles, ils atteignent 6 à 15 tonnes /an pour la banane plantain (Bakry et al, 1997).



En ce qui concerne les Antilles françaises, la banane-dessert, du sous-groupe Cavendish, est la première production agricole d'exportation. En 2001, 330 000 tonnes ont été exportées. Elles représentaient environ 40% de la production totale agricole antillaise.

Devant les difficultés croissantes de commercialisation de la production antillaise sur les marchés de prédilection européens, liées à la concurrence de la banane des pays tiers sur ces mêmes marchés (Marchal, 1993), il est intéressant de rechercher des voies de valorisation de la production agricole par sa transformation et sa valorisation à travers des molécules créditées de propriétés biologiques. Il s'agit également de pouvoir valoriser les écarts de triage (15-20% de la production ) qui résultent des critères de qualité très stricts appliqués pour que la banane antillaise Cavendish reste compétitive face à la banane dollar, dans le circuit de commercialisation. La banane dollar est le nom donné aux petits producteurs indépendants, essentiellement en Amérique du Sud, approvisionnant des multinationales de la banane dans un rapport de force défavorable (Loeillet, 2005).

Par ailleurs, nous ne saurions parler de nutri-fonctionnalités ou d'intérêt biologique sans évoquer les procédés permettant d'extraire ces composés actifs (polyphénols, stérols, amidon, et en particulier, l'amidon résistant). Il existe plusieurs méthodes d'extraction des matières végétales. Actuellement, la méthode la plus utilisée pour l'extraction des lipides et des matières actives est l'extraction par solvants. Les huiles essentielles sont extraites à la vapeur (hydro distillation). Ces deux méthodes d'extraction se font en général à des niveaux de températures assez élevées et par conséquent, une partie des extraits est susceptible de subir une dégradation thermique en plus d'être consommatrices d'énergie. De plus, l'extraction par solvant fournit un produit dont le très faible niveau de résidus de solvant doit respecter la réglementation définie en ce sens par l'ANSES, EFSA.

Depuis quelques années, nous avons assisté à une avancée technologique permettant de minimiser et même d'éliminer complètement ces inconvénients. Il s'agit des technologies « libre de solvant » comme les technologies membranaires, la flash détente (FD) ou l'extraction par fluide supercritique (EFS).

Le CO<sub>2</sub> supercritique utilisé comme fluide supercritique s'avère sélectif dans les séparations de composés sans laisser de résidus toxiques et sans risque de dégradation thermique des produits extraits.

La flash détente est un procédé permettant d'obtenir un broyage fin et une libération des métabolites obtenus par une mise sous vide brutale de la matière végétale placée au préalable dans une chambre d'étuvage.

Compte tenu du temps imparti et de la disponibilité des équipements, les autres technologies « free of solvent » telles que les technologies membranaires n'ont pas été retenues et testées.

Nos travaux de recherche ont porté sur :

- une caractérisation préalable physico-chimique de la variété Cavendish French West Indies (FWI) pour un suivi de cette maturation (processus physiologique dont dépend l'élaboration de la qualité) et une discrimination objective des différents stades physiologiques.
- une caractérisation nutri-fonctionnelle avec une attention particulière portée aux molécules polyphénoliques à forts potentiels nutrificationnels telles que les catécholamines et aux molécules phytostéroliques à fort potentiel et/ou unicité tels que les stéryls glycosylés incluant la classe des sitoindosides. La littérature fait effectivement référence à de fortes teneurs en dopamine (865 – 1900mg/100g MS peau), (Someya, 2002), stérols glycosydes au sein de la peau de bananes, à maturité commerciale. Des teneurs en leucocyanidine sont également recensées au niveau de la pulpe des bananes, à maturité commerciale.
- une étude comparative des procédés de broyage et d'extraction des molécules d'intérêt afin d'identifier quantitativement la méthode la plus adaptée pour les molécules d'intérêt: extraction au CO<sub>2</sub> supercritique versus extraction par solvant (Soxhlet) ; broyage par Flash détente versus broyage mécanique à l'ultra-turrax.
- une étude in vitro des fonctionnalités nutritionnelles telles que l'activité anti-ulcère, avec une tentative de compréhension des mécanismes d'action.

Il a effectivement été démontré que le stress oxydant et la colonisation par *Helicobacter pylori* sont les deux principaux facteurs responsables des ulcères gastroduodénaux. Il s'agissait pour nous d'évaluer l'action d'extraits polaires tels que les polyphénols et apolaires tels que les phytostérols sur la croissance de *Helicobacter pylori*. Le rôle des polyphénols ayant déjà été largement investigué pour leurs activités antioxydantes, nous n'avons pas jugé utile de re-démontrer cette activité antioxydante. Les travaux existants sur la capacité antioxydante des polyphénols nous ont donc servi de base de départ pour avancer plus vite. Par conséquent, nous ne présenterons pas dans ces travaux de mesures d'activités antioxydantes liées aux teneurs en polyphénols enregistrées. Nous avons effectivement souhaité, dans ces travaux, définir une cartographie des molécules d'intérêt biologique en fonction des différents stades physiologiques de récolte et des stades de mûrissement. Le screening de la matière première « Bananes Cavendish des French West Indies » nous a permis d'appréhender, en fonction des différents stades physiologiques, les teneurs et la nature des molécules d'intérêt nutri-fonctionnel et de compléter ainsi la littérature scientifique peu développée sur le sujet.

La dopamine, les stérols glycosylés incluant la classe des sitoindosides IV identifiés à ce jour uniquement dans trois espèces végétales dont *Musa paradisiaca* (Ghosal et al., 1984 ; Lagnika, 2005), *Gnetum pendulum* (Ligin wang, 2005, Lagnika, 2005) et *Cremanthodium ellisii* (Wang Ai-Xia et al., 2004 ; Lagnika, 2005), l'amidon et plus particulièrement, l'amidon résistant, lequel est non digestible et reconnu pour son action positive au niveau du colon ont retenu notre attention dans la mesure où la littérature fait état de très fortes teneurs en dopamine et d'amidon (résistant et digestible) chez la banane et respectivement dans la peau et la pulpe. De même, le rôle joué par ces molécules dans des activités cardiovasculaires, pour la dopamine et anti-ulcère, pour les stérols glycosylés et polyphénols (flavonoïdes) est amplement renseigné dans la littérature scientifique. Ainsi, il s'agissait, dans le cadre de nos travaux, de pouvoir examiner l'effet du stade de récolte et des conditions d'induction et de déroulement de la maturation post-récolte sur les teneurs du fruit en composés d'intérêt biologique et ce, dans la perspective de proposer une alternative à la valorisation des déchets (peaux) et écarts de triage les régimes de bananes présentant effectivement des hétérogénéités en terme de développement physiologique des fruits, avec des bananes plus avancées que d'autres dans les stades de maturité (Lassoudière 2007). Jullien et al., (2001) ont estimé que la différence entre les premières et dernières mains de bananes dessert était de 70 degrés jour (dd)).

## **PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

# **PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Chapitre 1 – Généralités sur les Musaceae**

### **1 – Origine et diversité génétique des bananiers**

#### **1.1 – Origine**

Originaires d'Asie du Sud-est, la plus ancienne trace fossile de bananiers date de l'ère tertiaire en Inde. Ces derniers se sont répandus de l'Inde à la Polynésie (Simmonds, 1962) avec un centre de diversification semblant être situé en Malaisie ou en Indonésie (Daniells, 2001). Transporté par les commerçants, le bananier s'est propagé vers l'Afrique de l'ouest il y a au moins 2500 ans (Mbida Mindzie, 2001). En 1502, les Portugais amènent les premiers bananiers des îles Canaries vers les Caraïbes, l'Amérique centrale et l'Amérique du Sud. C'est au dix-huitième siècle que la banane prend véritablement son essor aux Antilles. Ce sont plus de cinq millions de bananiers qui sont ainsi recensés à cette époque.

Ce n'est cependant qu'au début du 20<sup>ème</sup> siècle que la culture du bananier prend toute sa dimension en Guadeloupe et Martinique. Après la crise de la canne à sucre dans les années 60, qui occasionne notamment la fermeture de nombreuses distilleries, la banane devient alors la première richesse agricole des îles. Aujourd'hui, ce sont près de 300 000 tonnes qui sont produites en Guadeloupe et Martinique et qui sont expédiées chaque année, principalement vers l'Europe continentale. Si la qualité des fruits demeure le principal objectif des planteurs, ces derniers ont également énormément investi sur l'environnement.

Ainsi, depuis des millénaires, les migrations humaines et les échanges de matériel végétal ont introduit le bananier dans des situations écologiques très différentes sur tous les continents (Lassoudière, 2007).

#### **1.2 – Classification des bananiers**

Les bananiers font partie de l'embranchement des spermatophytes, l'embranchement le plus évolué dans la classification (Bonnier G., 1986 ; Lavergne R. et Vera., 1989). Ils sont phanérogames

(plantes à fleurs). Les bananiers font partie du sous embranchement des angiospermes (la feuille carpellaire se ferme et constitue un organe creux, l'ovaire, contenant les ovules). Ce sont des plantes vivaces de la famille des *Musaceae*, de l'ordre des *Zingiberales*, de la classe des *Monocotylédones*. Cette famille ne comprend que trois genres botaniques, à savoir (i) *Musella*, très peu représenté et localisé en Asie, (ii) *Ensete*, ne comportant pas d'espèces parthénocarpiques et (iii) le genre *Musa*. Le genre *Musa* est de loin le plus répandu et le plus diversifié. Il est caractérisé par des inflorescences avec des bractées insérées séparément des fleurs, à l'inverse du genre *Ensete*. Le genre *Musa* comporte quatre sections (Cheesman, 1947, cité par Heslop-Harrison, 2007) définies sur la base du nombre de chromosomes et des caractéristiques morphologiques : les *Australimusa* (n=10) ; les *Callimusa* (n=10) ; les *Rhodochlamys* (n=11) et enfin les *Eumusa* (n=11) avec 10 à 12 espèces qui constituent le genre le plus diversifié et comprend plus de 1000 variétés dont les plantains (Lassoudière, 2007). Une étude basée sur l'AFLP (Amplified fragment length polymorphism) propose de réduire de 4 à 2 groupes le genre *Musa* en regroupant les *Rhodochlamys* avec les *Eumusa* et les *Australimusa* avec les *Callimusa* (Wong et al., 2002).. Ces regroupements n'ont pas à ce jour été retenus (Perrier et al., 2011).

La majorité des variétés de bananiers sont issues des deux espèces à graines *Musa acuminata* (génome A) et *Musa balbisiana* (génome B) ou de leur croisement qui a donné naissance à différentes variétés de bananiers (Simmonds et al., 1955). *Musa acuminata*, aux multiples formes, trouve son origine en Birmanie, en Thaïlande, en Indochine et à Bornéo. *Musa balbisiana* est originaire de l'Inde, du Nord de la Birmanie, du sud de la Chine, du Sri Lanka, des Philippines et de l'est de la Nouvelle-Guinée. Les bananes des antilles sont nées de l'une ou deux de ces espèces.

Du point de vue botanique, on distingue les bananiers séminifères ou bananiers sauvages à fruits non comestibles des bananiers à fruits parthénocarpiques et comestibles. Les variétés sauvages, à fruits non comestibles sont toutes diploïdes (AA et BB). Les variétés cultivées actuellement sont généralement des clones triploïdes stériles et aspermes (AAB et ABB), issus soit de croisements interspécifique entre les 2 principales espèces séminifères diploïdes (*Musa acuminata* et *Musa balbisiana*), soit de croisement intra spécifique d'une seule espèce *Musa acuminata* telle que la variété *Cavendish* (AAA). Figure 1 ; tableau 1.

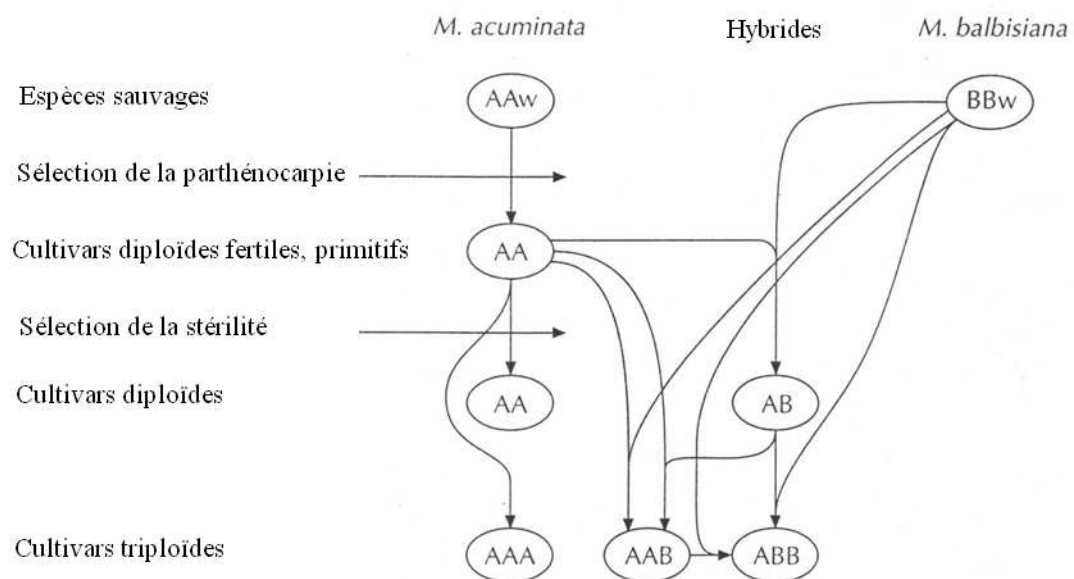


Figure 1 – Evolution des principaux groupes génomiques de la série Eumusa (Jones, 2000) W : sauvage (Wild type )

Sous-groupe	Cultivars	Type de fruit	Distribution
<b>Groupe AA</b>			
Sucrier	Pisang Mas, Fayssinette, Figue sucrée	dessert sucré	Tous continents
Pisang Lilin	-	dessert	Indonésie, Malaisie
Pisang Berangan	-	dessert	Indonésie, Malaisie
Lakatan	-	dessert	Philippines
<b>Groupe AAA</b>			
Cavendish	Lacatan, Poyo, Williams, Grande Naine, Petite Naine	dessert	Pays exportateurs
Gros-Michel Philippines	Gros Michel, Highgate, Cocos	dessert	Tous continents
Figue Rose	Figue Rose rose, Figue Rose verte	dessert	Pacifique, Antilles, Afrique de l'Est
Lujugira	Intuntu, Mujuba	à bière, à cuire	Indonésie, Afrique
Ibota	Yangambi km5	dessert	
<b>Groupe AB</b>			
Ney Poovan	Sait Velchi, Sukari	dessert acide	Inde, Afrique de l'Est
<b>Groupe AAB</b>			
Figue Pomme	Maça, Silk	dessert acide	Tous continents
Pome	Prata	dessert acide	Inde, Malaisie, Australie, Brésil, Afrique de l'Ouest
Mysore	Pisang Ceylan	dessert acide	Inde
Pisang Kelat	Pisang Kelat	dessert	Inde, Malaisie
Pisang Rajah	Pisang Rajah Bulu	à cuire	Malaisie, Indonésie
Plantains	French corne, Faux corne	à cuire	Afrique du Centre et de l'Ouest, Caraïbes, Amérique latine
Popoulou	Popoulou	à cuire	Pacifique
Laknao	Laknao	à cuire	Philippines
Pisang Nangka	Pisang Nangka	à cuire	Malaisie
<b>Groupe ABB</b>			
Bluggoe	Bluggoe, Matavia, Poteau, Cacambou	à cuire	Philippines, Caraïbes, Amérique latine
Pelipita	Pelipita	à cuire	Philippines, Amérique latine
Pisang Awak	Fougamou	dessert	Thaïlande, Inde, Philippines, Afrique de l'Est
Peyan	-	à cuire	Philippines, Thaïlande
Saba	Saba	à cuire	Philippines, Indonésie, Malaisie

Table

au 1 : Classification et répartition géographique des principaux bananiers cultivés (Bakry et al., 1997)

## 2 – Physiologie du bananier

### 2.1 – Appareil végétatif

#### 2.1.1 – Le système souterrain

La partie souterraine du bananier est composée d'un bulbe ou tige vraie, pourvue de nombreuses racines adventives qui apparaissent successivement au cours de son développement. Ce bulbe comporte un bourgeon central ou méristème apical à partir duquel sont initiées les ébauches foliaires puis les ébauches florales. C'est donc à partir de ce bulbe que sera initiée la fleur du bananier qui deviendra le régime (Tezenas du Montcel, 1985).



Les racines du bananier prennent naissance à partir de la limite externe du bulbe dite corticale et de sa partie interne dite médullaire. Les racines peuvent atteindre 2 à 3 mètres de longueurs sur certains sols. Elles sont cylindriques, de couleur blanchâtre à leur émission puis elles jaunissent et se durcissent en vieillissant. Ces racines primaires portent un abondant chevelu de racines secondaires.

Le bulbe du bananier porte aussi des bourgeons latéraux qui deviendront des œilletons puis des rejets. Chaque bourgeon peut se développer en rejeton et donner une nouvelle plante mais cela ne se réalise que pour certains d'entre eux, plus favorisés par certaines conditions, entre autres l'influence (dominance apicale, inhibition), le stade physiologique (floraison, récolte) du pied mère et les interventions pratiquées par le planteur sur les rejets eux-mêmes (œilletonnage). Les rejets sont bloqués dans leur développement tant qu'ils restent attachés à la plante dont ils sont issus, leurs feuilles ayant alors une forme d'éperon.

#### 2.1.2 – Les feuilles

Le méristème terminal de la tige produit une série de 20 à 30 feuilles de dimensions croissantes au rythme d'une tous les 6 à 15 jours suivant les conditions de température, d'hydrométrie et d'insolation. Le nombre de feuilles varie donc selon le cultivar et les conditions environnementales (Jones, 2000).

Ces feuilles dont la durée de vie est de 70 à 200 jours, possèdent une partie basale bien développée appelée gaine foliaire. Au sommet de chaque gaine se développe le pétiole qui se prolonge par la nervure centrale et supporte le limbe. Le pétiole est rigide, robuste et apte à supporter le poids important du limbe qui a 36 à 60 cm de large. L'enroulement des gaines les unes dans les autres, les plus anciennes étant repoussées vers l'extérieur par le développement des plus jeunes au centre, forment le pseudo-tronc du bananier. (Champion, 1967).

#### 2.1.3 – Les organes de la reproduction

##### 2.1.3.1 – Les fleurs

Les bananiers sont monoïques. L'inflorescence comprend à la fois des fleurs femelles, des fleurs hermaphrodites et des fleurs mâles.

C'est un épi de cymes unipares scorpioïdes : l'axe inflorescentiel porte des bractées à l'aisselle desquelles les fleurs sont en général insérées sur deux rangs. L'ensemble d'une bractée et des fleurs correspondantes forme ce qu'on appelle communément une main, chaque fleur représentant un doigt.

La fleur fortement zygomorphe, est composée en premier lieu d'un périanthe divisé en deux parties, un ensemble soudé de 5 pétales (périgone) en position abaxiale, et un pétale en position adaxiale.

L'androcée est constitué de 5 étamines. L'ovaire infère est triloculaire, pluri-ovulé, à placentation axile (Champion J, 1967). La morphologie des fleurs diffère selon le niveau d'insertion de la cyme sur l'axe inflorescentiel. Sur les dix premières mains en moyenne, l'ovaire représente les deux tiers de la hauteur totale de la fleur, le style et le stigmate sont bien développés et certaines des étamines sont réduites à des staminoïdes. Ces fleurs sont dites femelles et donneront ultérieurement des bananes fruits.

Les mains suivantes portent des fleurs hermaphrodites avec toutes les pièces bien développées, ce sont les fleurs intermédiaires. Enfin, les fleurs situées en position distale sur l'axe inflorescentiel ont un ovaire réduit au tiers de leur hauteur totale, les styles et les stigmates sont abortifs alors que les étamines sont bien développées. Ces fleurs sont dites mâles et ne donneront jamais de fruits.

#### 2.1.3.2 – Le fruit

Le fruit du bananier est une baie contenant des graines avec une pulpe réduite (espèces séminifères) ou bien seulement une pulpe parfois très abondante (espèces parthénocarpiques). Chez les espèces séminifères, la banane est remplie de graines (entre 60 et 100 graines par fruit). Ces graines ont moins d'un centimètre de diamètre, sont angulées et de formes variées.

Les bananiers parthénocarpiques donnent des fruits dont la pulpe est un parenchyme riche en amidon.

##### a- La maturation d'un fruit climactérique

Les bananes sont des fruits climactériques caractérisés par un pic du taux de respiration et une salve concomitante de la production endogène d'éthylène, au cours de leur processus de mûrissement. L'éthylène étant l'hormone végétale qui régule un large éventail de processus relatifs au développement végétal et aux réponses de l'environnement (Pech et al., 2008).

Cette augmentation brutale de la synthèse d'éthylène lors de la maturation bananes est responsable de l'initiation de l'ensemble des modifications biochimiques et texturales subies par le fruit (Biale, 1964).

Vendrell et McGlasson, 1971 ont également démontré que de la capacité d'un fruit climactérique à synthétiser de l'éthylène ou de celle à répondre à de l'éthylène exogène dépendait la capacité du fruit à mûrir. Il existerait deux systèmes de production d'éthylène : un système qui permettrait de produire un éthylène basal, système I et un autre système (système II) qui, quant à lui participerait à l'augmentation brutale de la synthèse d'éthylène. Les fruits climactériques immatures possèderaient le premier système et l'éthylène exogène aurait un effet inhibiteur sur la production endogène

d'éthylène. Chez les fruits climactériques mature, l'éthylène aurait, par contre, un effet stimulateur sur sa propre synthèse. La capacité à répondre à l'éthylène et à en synthétiser ne pourrait se produire qu'à un certain stade de développement de la plante (Vendrell et McGlasson, 1971). On distinguerait donc deux phases de vie: l'une dans laquelle le fruit n'est pas apte à mûrir avec une production d'éthylène très faible et non auto-stimulée. Dans cette période de vie, le fruit exposé à un éthylène exogène répond par un déverdissage sans que l'on puisse noter le développement de la saveur et des arômes d'un fruit mûr. L'autre phase, intervenant au cours de la deuxième partie de vie correspond à la phase dans laquelle le fruit devient apte à mûrir sur pied ou après détachement et est capable d'auto-stimuler sa propre production d'éthylène.

Dans cette même phase, la maturation des bananes se traduit par des changements tels que la transformation des réserves amylacées en sucres, une perte de fermeté de la pulpe permettant d'acquérir un fruit comestible. Ce processus du développement post-récolte se clôturera par une phase de sénescence du fruit se traduisant par une importante perte de fermeté.

Les facteurs de stress intervenant au cours du développement du fruit sur pied, à la récolte ou post récolte ont également un effet sur le processus de mûrissement pouvant aboutir à une stimulation de la maturation et de la sénescence (Omoaka, 2000) et notamment sur la durée de vie verte et la qualité du fruit dans le cas des maladies parasitaires telles que les pourritures de couronne (Jones, 2000).

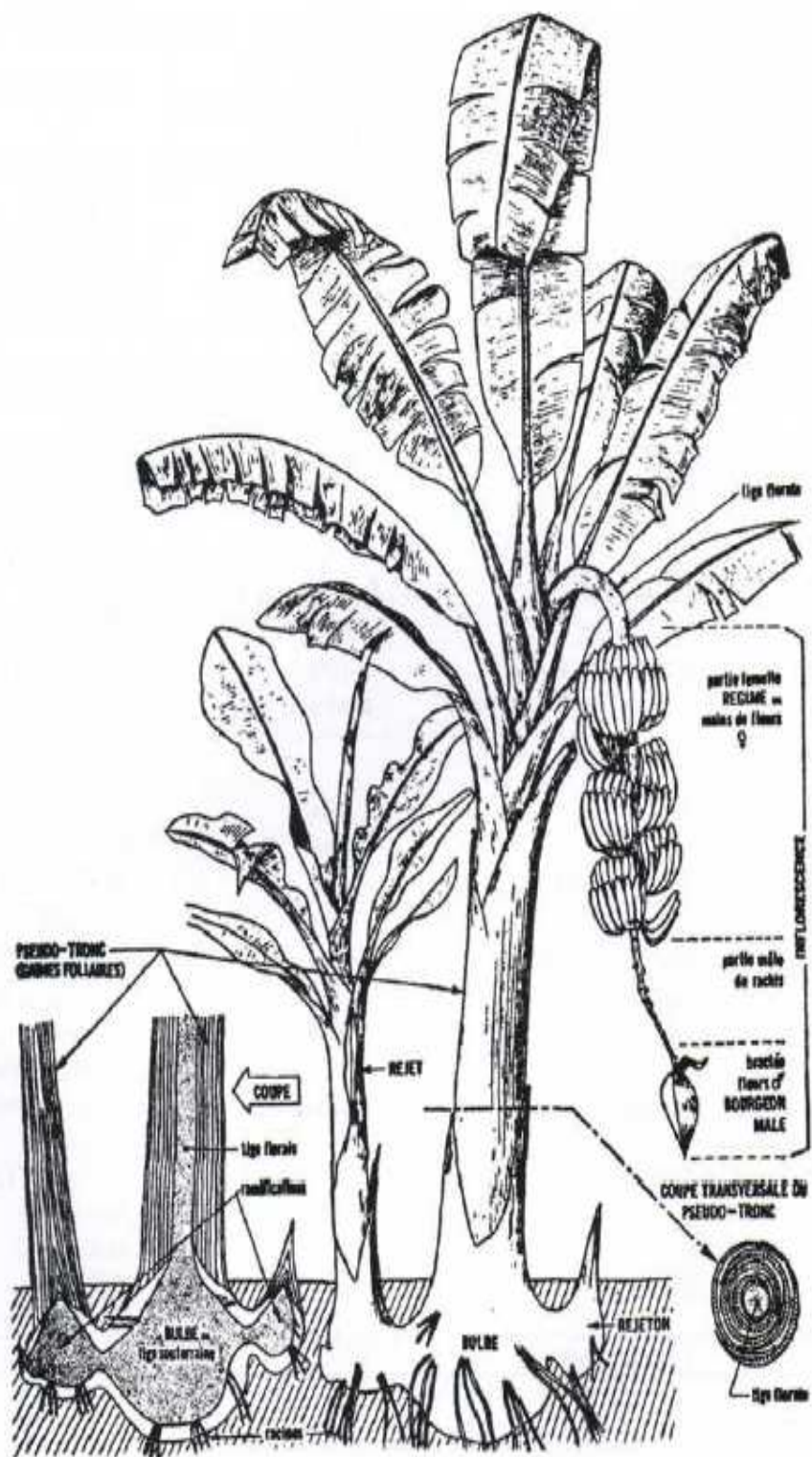


Figure 2 : Représentation de l'organisation du bananier et de ses rejets (Champion, 1963)

## 2.2 – Physiologie du bananier

### 2.2.1 – Le mode de reproduction

Le bananier est une monocotylédone herbacée de grande taille.

Mis à part les espèces à graines (espèces de bananiers sauvages) qui disposent à la fois d'une multiplication végétative et d'une reproduction sexuée, le mode de reproduction des bananiers cultivés est la multiplication végétative (Bakry, 1984).

Après fructification, une tige meurt et est remplacée par des ramifications émises par la tige : les rejets ou rejetons. Dans la vie du bananier, il y a une phase végétative durant laquelle il produit des feuilles puis une phase florale durant laquelle il produit des pièces florales.

### 2.2.2 – Le cycle végétatif

Le bourgeon émis par le bulbe se développe d'abord latéralement puis se redresse peu à peu (géotropisme négatif) quand ce bourgeon atteint un certain stade (diamètre de 7 à 8 centimètres). Après avoir émis un certain nombre de feuilles (en moyenne 30), le méristème central va en arrêter la différenciation foliaire (?) et débiter celle de l'inflorescence. Celle-ci sera poussée hors du pseudo-tronc par la croissance et l'allongement de la tige vraie après une évolution interne d'environ 3 mois (Bakry, 1984). Le méristème floral différencie tout d'abord des fleurs femelles puis des fleurs hermaphrodites pour ne former ensuite que des fleurs mâles. Cette description est celle généralement observée chez la majorité des variétés de banane. Cependant, certaines variétés de banane *Musa acuminata* basnkii ou *Musa acuminata* siamea ont à la place des premières fleurs femelles, des fleurs hermaphrodites avec des étamines et des ovaires fonctionnels (Kerbellec, 1995). Chez les bananes à cuire, les diverses inflorescences mâles observées chez les bananes à cuire de type plantain permet de les classer les cultivars en 3 sous groupes (Tezenas du Montcel et al., 1983), en fonction du degré de croissance d'inflorescence. Les Frechns Plantains à croissance indéfinie avec persistance du bourgeon mâle à l'extrémité, les faux cornes et cornes vrais à inflorescence finie avec un bourgeon mâle qui disparaît à maturité du régime et enfin le dernier groupe caractérisé par une extrême dégénérescence (cas du cultivar Nothing but green). Chez ce dernier, le rachis en forme de moyen ne porte aucune fleur (mâle comme femelle) et pas conséquent aucun fruit.

Chaque groupe de fleurs est protégé par une bractée qui tombe un à trois jours après que l'inflorescence se soit dégagée du sommet du faux-tronc. Le découverturement des fleurs se fait dans l'ordre de leur différenciation : des plus anciennes aux plus jeunes.

Les bananes et plus particulièrement les bananes Cavendish sont le résultat du développement parthénocarpique des ovaires femelles uniquement. De sorte qu'un régime comprend entre 9 et 12 mains, chacune pouvant porter 18 à 20 bananes. La récolte du régime de bananes Cavendish se fait environ trois mois après la sortie de l'inflorescence (Lescot 1998).

La durée du cycle est d'environ 10 à 18 mois selon les conditions écologiques et les cultivars. Les bananes sont récoltées encore vertes et généralement stockées dans des chambres de conservation où la température est régulée à 14°C afin d'en permettre le transport.

L'évolution en sucres solubles de l'amidon, se met en place au cours de la maturation du fruit, laquelle peut se faire hors pied ou quand le régime reste attaché au pied-mère. Le passage en murisserie permet de déclencher et homogénéiser le processus de maturation par un traitement à l'éthylène ou un mélange acétyl/éthylène. Le pseudo-tronc est abattu au moment de la récolte du régime. Un ou plusieurs rejets vont alors prendre le relais et se développer pleinement (Bakry, 1984).

### 2.2.3 – La biologie florale

#### 2.2.3.1 – La floraison femelle et la fructification

La méiose femelle a lieu 5 à 7 jours avant le découverture de la bractée et le début de réceptivité du stigmate (Simmonds, 1962). Dans les premiers temps qui suivent le découverture de la bractée, l'apex des fleurs est dirigé vers le bas. Une à deux semaines après, elles amorcent un redressement vers le haut. Le régime acquiert sa conformation finale environ 3 semaines après l'émission de l'inflorescence hors du pseudo-tronc. Les bananes grossissent, les parois sont riches en chloroplastes. Les cellules de la pulpe sont pleines de graines d'amidon.

L'ovule est fécondé dans les 24 heures qui suivent la floraison. Le zygote se divise après une quinzaine de jours. Sa différenciation commence après 55 jours environ. Les méristèmes caulinaire et racinaire apparaissent à l'âge de deux mois (Lassoudière, 1978).

#### 2.2.3.2 – La floraison mâle

Les fleurs mâles apparaissent sur l'inflorescence brutalement après les fleurs femelles. Ces fleurs ne donneront jamais de fruits. La méiose mâle a lieu dans les fleurs 20 à 30 jours avant leur apparition (découverture de la bractée).

Le méristème floral a une croissance théorique infinie : le bourgeon terminal continue à former sans interruption des fleurs mâles jusqu'à plein développement des fruits et jusqu'à la fanaison de la tige, les dimensions de ces fleurs décroissant lentement. La plante meurt par fanaison après la maturation de l'inflorescence, les feuilles ayant disparu progressivement après l'émission de celle-ci (Simmonds, 1962).

## 2.3 – Variété Cavendish

Le sous-groupe homogène des *Cavendish* (AAA) a été adopté dans presque toutes les régions tropicales humides pour son fort potentiel productif (jusqu'à 60 tonnes/ha) associé à une bonne précocité (récolte en 10 mois) et une taille réduite (moins de 3 mètres) facilitant sa culture (Lescot, 1998).

### 2.3.1 – Morphologie du fruit du bananier triploïde Acuminata AAA : *Cavendish*

Le groupe *Cavendish* comprend 4 cultivars principaux cultivés pour l'exportation des fruits et de nombreuses autres espèces à consommation locale. On trouve dans ce groupe des formes géantes (*lacatan*), moyennes (*maneah*, *poyo*, *valéry* et *sérédou*) et naines (la grande naine, le nain). Les bananes sont formées de la peau (le péricarpe) et de la pulpe (l'endocarpe). Le fruit est relié au coussinet par un pédicelle. Le péricarpe est composé d'un épiderme stomatifère avec une cuticule ne permettant que peu d'échanges gazeux, d'une couche parenchymatique sous-épidermique et d'une zone profonde à parenchyme lâche (Omoaka, 2000). Les fruits possèdent une grande proportion de peau qui diminue avec leur maturité. Les ovules avortés se retrouvent dans l'endocarpe et les grosses cellules ovoïdes amylofères des 3 carpelles constituent l'essentiel de la pulpe (Lassoudière, 2007).

Au moment de la floraison, les feuilles fournissant à la plante une surface foliaire importante permettent de canaliser les eaux de pluie (Stover et al., 1987). A la sortie de l'inflorescence, il ne reste que 11 à 15 feuilles fonctionnelles (Lassoudière, 2007). Pour un développement correct des fruits jusqu'à la récolte, il faut au minimum 8 feuilles fonctionnelles à la floraison et au moins 4 à la récolte.

### 2.3.2 – Développement physiologique du fruit Cavendish

Quatre périodes essentielles de croissance du fruit sont à retenir pour les variétés Cavendish (Lassoudière, 2007) :

- (1) Croissance faible jusqu'au début de l'allongement de la hampe florale.
- (2) Divisions cellulaires très actives de 10 jours avant à 30 jours après la sortie de l'inflorescence à l'extérieur. Les divisions cellulaires sont à l'origine du développement de la pulpe et correspondent à une phase de forte élongation du fruit et d'un faible remplissage du fruit en réserve (amidon) et par conséquent la faible augmentation du poids sec de la pulpe.
- (3) Grandissement cellulaire de 30 à 80 jours après la sortie de l'inflorescence. Cette période correspond au remplissage des cellules de la pulpe par l'accumulation d'amidon, la forme principale de stockage. Les assimilats sont amenés jusqu'aux fruits par le pédoncule dont le rôle est uniquement conducteur.
- (4) Phase finale de maturation, caractérisée par l'hydrolyse de l'amidon. Elle commence avant la récolte et avant le remplissage maximal du fruit.

Au sein du même régime, des différences de développement sont observées. Les fruits initiés les premiers sont par exemple de 30 à 40% plus gros que ceux initiés en dernier (Robinson 1996). Les écarts de longueur entre la deuxième et la dernière main s'accroissent du début de relèvement des doigts jusqu'à la récolte mais leur valeur relative reste constante (20%) (Lassoudière, 2007). Il a été suggéré que le développement différentiel des fruits résulterait des différences au niveau des divisions cellulaires et des caractéristiques de remplissage des fruits causées par la différence d'âge observée entre les fruits. Lassoudière (2007) précise que si la différence d'âge entre les fleurs d'une même main n'est que de deux jours en moyenne, elle est de plus de 15 jours entre les mains 1 et 8. Jullien et al., (2001) ont estimé que la différence entre les premières et dernières mains était de 70 degrés jour (dd).

### **3 – Utilisations de la banane**

#### **3.1 – Usages traditionnels et artisanaux du fruit**

Dès le premier millénaire les bananes furent apportées en Afrique par des Indo-malais ou par les Arabes, au début du XVI<sup>e</sup> siècle elles gagnèrent, en passant par les Canaries, Saint Domingue et



l'Amérique du Sud où elles furent rapidement répandues par les Indiens. Les bananes sont aujourd'hui cultivées dans tous les pays tropicaux et subtropicaux.

Chez les espèces cultivées, on établit une distinction entre bananes-fruits et bananes-légumes. Les bananes-fruits se consomment essentiellement en frais, les bananes-légumes plus riches en amidon à l'état mûr sont en revanche consommées cuites à l'eau, à la vapeur, au four, grillées, frites et rôties ou séchées. Elles sont également utilisées pour en faire de la farine de bananes, un complément fréquent aux régimes diététiques. On fabrique également de la fécule à partir des bananes-légumes et des bananes-fruits vertes. Elles sont utilisées en purée pour la confection de boulettes connues sous le nom de "foutou". La banane-fruit est aujourd'hui le fruit tropical le plus important. Les bananes comestibles, fruits parthénocarpiques et dépourvus de graines, représentent un aliment de base important dans de nombreux pays tropicaux. Ils sont aussi consommés en confitures, marmelades et compotes.

Outre l'utilisation de la farine pour la fabrication des gâteaux et des biscuits, aux Philippines, on fabrique du ketchup à la banane. Tandis qu'en Afrique centrale (pays des grands lacs), il existe une bière fabriquée à partir du jus de fruit mûr qui est très appréciée. Au Rwanda, plus de 600 000 tonnes de cette bière de bananes seraient fabriquées artisanalement, chaque année. 21% des surfaces cultivées sont consacrées au bananier à bière (variété locale de plantain). Cette bière est surtout réservée aux fêtes et autres événements marquant la vie sociale (Cirad, 2001 ; Kasongo, 2005 ; Tchango et al, 1998).

On peut également préparer des boissons fermentées de banane usuellement appelées vins de bananes et une sorte de liqueur. Cette boisson fermentée de banane s'obtient en faisant fermenter le suc obtenu par expression. La fermentation se fait à l'air libre et dure environ 3 jours (FAO, 1991 ; Hammond, 1996 ; Akubor, 2003). On prépare cette boisson en Jamaïque, en Guyane, aux Antilles et même au cœur de l'Afrique. Le vinaigre s'obtient également par fermentation et est très aromatique. En Polynésie, les populations locales préparent une boisson non fermentée constituée de pulpe fraîche diluée dans de l'eau ou dans du lait de coco. L'eau de vie de bananes se prépare couramment.

Des animaux (bœufs, porcs en particulier) sont élevés avec les fruits excédentaires. La peau peut aussi être utilisée pour l'alimentation du bétail. Pour les porcs, il est préférable d'y ajouter du maïs. Le suc des peaux peut pour sa substance identique au caoutchouc avoir ce dernier usage (Cirad, 2001 ; Tchango et al, 1998).

Les bananes ont plusieurs usages médicaux. La consommation d'une banane peut aider la digestion en raison de sa teneur élevée en vitamine A.

### 3.2 – Usages industriels du fruit

Il existe plusieurs usages industriels des bananes. La pulpe de banane sert à la fabrication industrielle de sucre, chips, confitures, farines et poudres de bananes.

#### 3.2.1 – Farines et poudres de banane en production industrielle

##### 3.2.1.1 – Farines de bananes vertes

Les farines de bananes sont obtenues à partir de bananes vertes. Ces bananes vertes sont plongées dans de l'eau à 80°C pendant quelques minutes afin de favoriser leur épluchage. Elles sont coupées, séchées sous vide et broyées. La poudre broyée est ensuite tamisée. Cette poudre est jaunâtre, de saveur agréable et douceâtre et possède l'odeur de la banane fraîche. La production de farine de banane n'est pas un succès car il est difficile de conserver l'arôme, la texture et la couleur du produit d'origine. La teneur en vitamines (la vitamine C disparaît lors du séchage) est voisine de celle de la farine de blé ; elle est plus élevée que celle de l'avoine. La proportion d'amidon est relativement importante dans la farine de banane (Kasongo, 2005 ; Cirad 2001).

##### 3.2.1.2 – Poudres de bananes mûres

On obtient la poudre de bananes par broyage des fruits mûrs. La pulpe broyée forme une pâte homogène qui est séchée dans un séchoir ou dans un atomiseur. Le produit final possède l'arôme désiré mais doit être conservé au sec et à l'abri de l'air pour éviter son brunissement. L'atomiseur permet d'obtenir des produits plus fins, moins caramélisés. Certaines usines ont été montées dans les pays producteurs de bananes afin de récupérer les fruits non exportables et d'en faire de la poudre (Kasongo, 2005).

#### 3.2.2 – Le sucre de banane

Une entreprise américaine fabriquait à Cuba du sucre de bananes (1000 barils de sucre de bananes par jour, 1900). Ce sucre de couleur brune avait une saveur agréable rappelant celle du fruit. Mais la teneur en sucre variait notablement d'une banane à l'autre et il n'y avait qu'une très faible teneur en sucre cristallisable.

Au Costa Rica, l'utilisation des technologies membranaires permet d'obtenir un sirop de banane, commercialisé par l'entreprise « Florida product » de San Jose (Cirad, 2001).

#### 3.2.3. Les chips de bananes

Les chips de bananes réalisées principalement à partir des bananes à cuire telles que les bananes plantains représentent également une large utilisation des bananes. Elles sont dégustées en apéritif et peuvent être salées, épicées, sucrées (Cirad, 2001).

### 3.3 – Usages du bananier et de ses différentes parties

#### 3.3.1 – Les feuilles, les bourgeons, le pseudo-tronc

Avant d’être domestiquée par l’homme, la taille de la banane ne dépassait pas les 6 à 8 cm et elle contenait principalement des graines. A cette époque, le bananier sauvage était souvent utilisé pour d’autres qualités que son fruit. La banane était, par conséquent, très peu consommée par nos ancêtres chasseurs-cueilleurs. Le fruit était alors surtout cultivé pour son tronc représentant une excellente source de fibres afin de confectionner des cordages, des vêtements, des sacs. Les feuilles étaient recyclées pour la fabrication d’assiettes, d’emballage de cuisson et servaient également à la fabrication d’abris et de cahiers. On consommait fort probablement ses bourgeons et ses gaines foliaires internes (Kasongo, 2005).

Parmi les nombreux usages de la banane, on peut encore citer l’emploi des inflorescences et de la portion interne des tiges comme légumes bouillis, des cendres de feuilles et de l’ « écorce » du fruit comme assaisonnement. Les « écorces » du fruit peuvent également servir au tannage. En effet, elles renferment une forte proportion de tanins qui donnent aux cuirs ou aux tissus une coloration noire presque indélébile. La sève de banane peut servir de teinture.

Les jeunes pousses peuvent être consommées comme des asperges et les feuilles servir d’emballage aux aliments en vue de conserver leur fraîcheur.

Dans les pays d’Orient, les feuilles complètent les plats de riz ou de viande. Les feuilles sont diététiquement intéressantes du fait de la présence de cellulose qui facilite le transit intestinal, et de vitamines (si la feuille est fraîche). Du fait de la pénurie en protéines des pays en voie de développement, on a suggéré d’extraire des protéines de feuilles de légumineuses, du soja, du maïs. Le bananier constitue, quant à lui, une source appréciable de protéines si les feuilles sont coupées aussitôt après la récolte des fruits (FAO, 1991).

La fibre des feuilles de bananes donne un papier résistant que l’on utilise pour faire des billets de banque et des sachets de thé. Ce qu’on nomme “filasse ou chanvre de Manille” est la fibre obtenue à partir des feuilles de la variété “Abaca” (*Musa textilis*), dont on se sert pour fabriquer des sacs et de la corde. La variété *Musa textilis* est très recherché industriellement pour les fils de près de 2 mètres extraits des gaines foliaires constituant le pseudo tronc. Les gaines internes donnent des fils plus beaux et plus fins que les gaines externes, et s’allient bien avec la soie (Aragon, 2000).

## **Chapitre 2 – Caractéristiques physico chimiques et nutritionnelles de la banane**

Le fruit du bananier est très répandu et largement consommé à l'échelle mondiale. Sa composition chimique a été étudiée afin de déterminer son intérêt alimentaire (Ali et al., 1997 ; Nagueira et al., 2003).

La composition biochimique de la banane varie selon la variété, l'évolution des conditions du milieu, d'une période à l'autre de la vie du bananier.

En effet, les cycles du bananier ne dépendent pas des saisons et des bananes sont produites toute l'année, impliquant des cycles ayant leur origine à toutes les dates possibles.

Ainsi des bananiers ayant eu dans la première moitié de leur vie des conditions de milieu très favorables et une deuxième moitié de vie avec des conditions défavorables, n'auront pas la même qualité de fruit que les bananiers ayant eu une première moitié de vie défavorable et des conditions de milieu favorables dans la seconde moitié de vie (Martin-Prevel, 1982).

La pulpe de la banane représente 60 à 65% du fruit suivant la variété et son développement. La banane est un aliment hautement énergétique (379 kJ pour 100g) dont les hydrates de carbone sont facilement assimilables. Sa teneur en lipides et en protides est faible, mais elle est riche en fibres. La banane contient des amines qui sont responsables de certains effets thérapeutiques. Elle contient également de nombreuses vitamines, des matières minérales, ce qui la rend intéressante au niveau nutritionnel. Les glucides disponibles sont présents en quantités intéressantes. Les protéines et lipides sont en très faible proportion, voire quasi-absents pour ce qui est des lipides (Happi- Emaga et al., 2007).

### **1 – Caractérisation du péricarpe des bananes**

#### **1.1 - Couleur de la peau**

La banane non mûre a une haute concentration en chlorophylle dans la peau alors que dans la banane mûre, cette teneur est pratiquement nulle (Ali, 1984).

Une banane verte contient deux classes de pigments :

- Les pigments verts (chlorophylle)
- les pigments jaunes (carotène)

Pendant la maturation, la chlorophylle est dégradée progressivement par l'action des chlorophyllases révélant ainsi le carotène

Von Loesecke (Von Loesecke, 1950) décrit huit stades de maturité chez les bananes comestibles. Généralement dans le commerce, sept stades de maturation sont déterminés visuellement (Li et al. 1997). Ces stades de maturité sont définis en fonction des teneurs en amidon et en sucres totaux pour chacun d'eux. Ces différents stades de maturation sont également décrits en fonction de la couleur de la peau (Lii et al., 1982). Les conditions de stockages des fruits ont une influence sur le mûrissement et par conséquent, le changement de couleur qui traduit ce mûrissement (Chen, 2002). A partir du stade de maturité 7, les bananes dessert (AAA) sont en surmaturité et les phénomènes de sénescence commencent à se manifester (liquéfaction de la pulpe et noircissement de la peau).

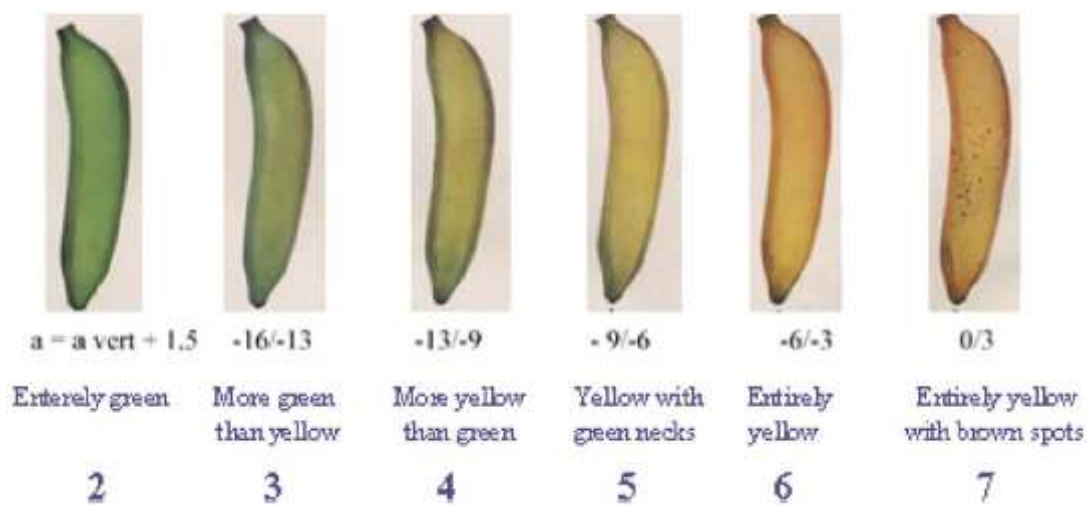


Figure 3 - Index des couleurs de 2 à 7 établi selon l'échelle de la couleur de la peau (Lii et al, 1982).

## 1.2 – Structure cellulaire de la peau de banane

Une banane de 100 à 200 g selon la variété, renferme à maturité 40 à 35 % de peau. La peau se compose de plusieurs assises cellulaires :

- l'épiderme : il est constitué de cellules très serrées assurant une bonne protection contre les insectes, les champignons...
- le parenchyme : il est constitué de plusieurs couches cellulaires d'autant plus lâches que l'on se rapproche de la pulpe. Ceci explique d'ailleurs le clivage facile Peau- Pulpe. Ce sont les cellules du parenchyme qui contiennent la chlorophylle dont la couleur change lors du mûrissement.

- les faisceaux cribro-vasculaires qui servent au transport de l'eau et des nutriments (ils sont plus ou moins accolés à la pulpe lors de l'épluchage).

### 1.3 – Composition nutritionnelle de la peau de banane

Les principaux constituants de la peau sont en pourcentage du poids frais : l'eau (89,45), les glucides totaux (2,29), les sucres totaux (2,06), le saccharose (1,55), les pectines (0,58), les sucres réducteurs (0,51), les lipides (0,50), l'amidon (0,23).

La peau est plus riche en eau que la pulpe, elle a la même faible proportion de matières grasses mais elle est beaucoup plus pauvre en pectines et glucides.

Les analyses de cendres de pulpe et de peau montrent que la proportion de tous les constituants minéraux, notamment celle de la potasse est plus élevée dans la peau que dans la pulpe.

#### 1.3.1 - Les protéines et autres composés aminés de la peau de banane

Une étude de la composition chimique de la peau de six variétés de peaux de bananes et bananes plantains: banane de dessert (Musa AAA), plantain (Musa AAB), banane à cuire (Musa ABB) et banane hybride (Musa AAAB), à trois stades de maturité, a été réalisée afin d'explorer leurs applications potentielles. La teneur totale en protéines de la peau de banane et de banane plantain est de 8 à 11%. En général, cette teneur ne varie pas de façon significative au cours du mûrissement. L'index chimique comparé à la protéine référence de la FAO varie de 20,8 à 63,3 selon les variétés de bananes. La leucine, la valine, la thréonine, la phénylalanine sont les principaux acides aminés essentiels présents dans la peau des différentes variétés de bananes. La lysine est l'acide aminé limitant, avec des concentrations faibles et inférieures à celles de la protéine référence, pour toutes les variétés de bananes. Cet indice chimique diminue du stade 1 au stade 7 de maturité pour les bananes et plantains, ce qui indique que les peaux de bananes ont une bonne qualité protéinique au stade 1 de maturité (Emaga, 2007).

Emaga (2007), a également montré la présence de tous les acides aminés répertoriés par la FAO 1990, dans les 6 variétés de peaux de bananes du genre *Musa* : French Clair (FC), Grande Naine (GN), Big Ebanga (BE), pélipita (PPT), Yankambi Km5 (YKm5), et CRBP039 (039), obtenus à différents stades de mûrissement : stade 1 (vert), stade 5 (plus de jaune que de vert), stade 7 (entièrement jaune).

Les teneurs en acides aminés essentiels des peaux de bananes varient de 1,7% à 2,6% avec une valeur moyenne autour de 2,1%, alors que pour les acides aminés non essentiels, les quantités vont

de 2,6 % à 5,5%, avec une valeur moyenne autour de 4,0%. Le ratio en acides aminés non essentiels (environ 70%) est supérieur à celui en acides aminés essentiels (30%).

Amino acid score in the fruit peels of different varieties and maturation stage on the basis of value FAO/WHO (1990)

	Protein of ref. essential amino acids (mg/1 g)	Thr 34	Val 35	Met + Cys 25	Ile 28	Leu 66	Tyr + Phe 63	His 19	Lys 58	Trp 11	Chemical index
BE	1	123.5	116.4	108.6	101.4	76.7	92.1	91.0	36.0	78.6	36.0
	5	112.0	108.8	100.0	89.3	68.5	85.0	94.0	26.7	108.2	26.7
	7	112.9	116.3	97.7	91.4	70.5	81.2	79.6	24.1	105.7	24.1
FC	1	106.3	99.8	86.7	94.7	73.0	93.7	101.5	49.9	98.6	49.9
	5	106.7	109.9	74.7	90.3	68.3	90.7	81.0	28.4	99.9	28.4
	7	100.2	103.6	79.1	86.3	66.6	85.5	63.6	20.8	139.9	20.8
GN	1	93.4	108.8	78.7	85.0	69.7	55.4	108.6	52.0	69.9	52.0
	5	93.6	121.2	104.8	92.0	73.5	57.7	79.7	28.7	124.0	28.7
	7	90.8	112.9	81.0	92.6	71.1	54.9	78.0	27.7	101.0	27.7
Ykm5	1	93.8	107.7	81.2	93.2	72.5	73.6	152.6	55.0	79.1	55.0
	5	91.4	100.4	81.1	91.7	69.6	68.6	92.5	37.3	61.4	37.3
	7	89.4	112.1	86.1	90.4	71.0	72.3	106.6	37.1	69.0	37.1
PPT	1	86.7	93.2	80.0	82.7	49.4	70.2	110.8	45.4	95.7	45.4
	5	84.0	94.4	78.6	82.9	50.1	70.9	79.9	24.6	89.3	24.6
	7	85.2	93.5	92.2	80.1	49.6	71.2	78.7	22.6	68.0	22.6
039	1	87.0	116.6	81.6	105.7	68.0	90.7	177.2	63.3	83.5	63.3
	5	94.3	148.2	83.0	111.2	70.0	77.9	94.3	30.9	77.2	30.9
	7	90.9	106.9	76.4	97.4	62.0	72.2	67.0	21.9	82.6	21.9

Tableau 2- Indice chimique dans les peaux de fruits, en fonction des différentes variétés et des stades de maturité sur la base de valeur FAO/WHO (1990) (Emaga, 2007)

Nota : La dopamine est le seul composé aminé phénolique trouvé dans la peau de banane. Les peaux perdent très rapidement leurs amines phénoliques par rapport à la pulpe (Emaga, 2007).

100 g de peau de bananes dessert (matière sèche) contient (P. Waalkes, 1958) :

- 6,5 mg de sérotonine
- 12, 2 mg de norepinephrine
- 70,0 mg de dopamine

### 1.3.2 - Les lipides

Dans les peaux de banane, les stérols, et plus précisément les deux principaux cétones triterpéniques (3.1-norcyclolaudenone et cycloeucalenone) représentent environ 49 – 71% de l'extrait de banane lipophile. Les fortes teneurs en steryl esters (469 - 24405 mg/kg) et diacylglycerols (119 – 878 mg/kg), principalement présents dans les peaux de bananes expliquent l'augmentation de la quantité d'acides gras et stérols, après une hydrolyse alcaline. Quelques steryl glucosides ont aussi été

trouvés en quantités significatives (273 – 888 mg/kg), en particulier, dans la pulpe de banane (888 mg/kg) (Oliveira, 2008).

L'acide linoléique (omega 6) et  $\alpha$ -linoléique (omega 3) représentent plus de 40% (42,1 – 52,2%) des acides gras totaux, présents dans les peaux de bananes de diverses variétés. L'huile extraite des peaux de bananes est riche en acides gras essentiels polyinsaturés. Les acides gras saturés représentant 40,4% à 51,9% des acides gras. Les principaux acides gras saturés sont les acides palmitique et stearique mais on retrouve aussi en plus faibles quantités les acides arachidique et myristique (Emaga et al, 2007). La teneur totale en lipides ne varie pas au cours des étapes de mûrissement.

### 1.3.3 – Les glucides de la peau de banane : amidon et sucres solubles

Durant le mûrissement, l'amidon, présent dans la peau, décroît considérablement (stade 1 à 7). Chez la variété Big Ebanga, le pourcentage d'amidon diminue de 39,3% à 0,1%, du stade 1 au stade 7 de mûrissement. Simultanément à la baisse de la teneur en amidon présent dans les peaux, on enregistre une augmentation des sucres solubles. Ils augmentent de 4,2 à 38,3% (Emaga, 2007). Ce synchronisme peut s'expliquer par la dégradation de l'amidon et la formation de sucres solubles sous l'action des enzymes telles que les amylases, glycosidases, synthases, invertases, phosphorylases. La disparition de l'amidon durant le mûrissement de la peau des fruits semble être relativement rapide en raison de la co-activité de ces enzymes. En effet, selon Terra et al, (1983) et Cordenunsi et al., (1995), les amylases, glycosidases, phosphorylases, synthase et invertase de sucrose agiraient ensemble dans la dégradation de l'amidon et la formation / accumulation des sucres solubles. Regina et Glo'ria (2005) ont observé ces mêmes phénomènes de dégradation de l'amidon et de formation de sucres dans le mûrissement de la pulpe. Selon Loeseck (1950), les teneurs en amidon de la peau et de la pulpe varient avec le stade de maturité, la variété du fruit, les conditions de culture et de mûrissement. Des analyses chromatographiques ont révélé que dans les peaux de bananes prises au stade de maturité commerciale, on retrouve 3 types de sucres solubles ; les principaux étant le glucose et le fructose (Adisa & Okey, 1987). Fernandes, Carvalho, & Cal-Vidal, 1979; Terra et al., 1983; Schneeman, 1987 ; Mota, Lajolo, & Cordenunsi, 1997; Regina & Glo'ria, 2005; ont montré dans des études réalisées sur la pulpe que les sucres présents étaient le glucose, le fructose et le sucrose (le sucrose étant présent en plus faibles quantités que le glucose et fructose).



## 2 – Caractérisation de la pulpe des bananes (ou endocarpe)

### 2.1 – Composés aromatiques volatiles de la pulpe

Les composés volatiles qui confèrent à la banane son arôme particulier ont été dénombrés à plus de 350 (Vermeir, 2009 ; Aurore 2011). Il s'agit d'un complexe d'éthers, d'alcools, d'aldéhydes et de cétones.

Les composés volatiles recensés jusqu'à aujourd'hui au sein de la pulpe incluent 3 cétones, 3 aldéhydes, 6 alcools et 18 esters (majoritairement dérivés des acides butanoïques et propanoïques) (McCarthy et al., 1963 ; Agelopoulos & Pickett, 1998; Ibanez et al., 1998; Jordan et al., 2001; Ettre et al., 2003 ; Liu & Yang, 2002; Mayr et al., 2003; Nogueira et al., 2003 ; Aurore, 2011). Les composés typiques qui sont associés à la banane sont l'hexanal, 2-pentanone, 2-pentanol, 3-méthyl-1-butanol, 3-méthylbutyl acetate (isoamyl acetate) et l'eugénol. Les profils des principaux composés aromatiques volatiles varient avec le mûrissement et diffèrent d'une variété à une autre (Vermeir, 2009 ; Aurore, 2011).

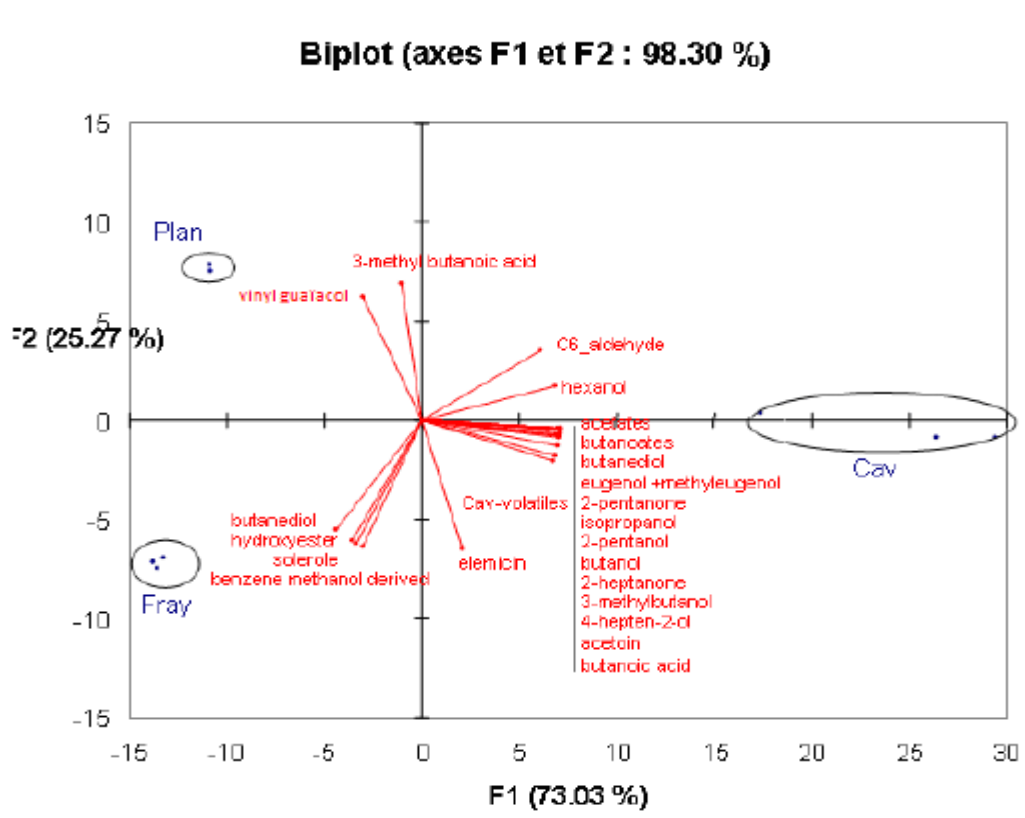


Figure 4 – Analyse des principaux composants des composants aromatiques au sein de la banane (Cav : Cavendish ; Fray : Frayssinette ; Plan : plantain) (Aurore, 2011)

## 2.2 – Structure cellulaire de la pulpe ou de l'endocarpe

La pulpe est constituée de grandes cellules aux parois fines donc aisément digestibles, remplies de grains d'amidon. Lors du mûrissement, ces grains disparaissent, l'amidon étant transformé en sucres solubles. Les parois cellulaires contiennent des proto-pectines qui, lors du mûrissement, sont dégradées enzymatiquement et solubilisées pour former des pectines, ce qui donne sa consistance molle au fruit mûr (Grierson et al., 1981 ; Sakai et al., 1993). Les pectines sont importantes dans la consistance du fruit. Elles interviennent dans les changements structuraux au cours de la maturation et du stockage. Dans la pulpe de banane, les teneurs en pectine varient de 0,7% à 1,2% par rapport à la matière fraîche (Nwanekezi et al., 1994).

## 2.3 – Composition nutritionnelle de la pulpe

### 2.3.1 – Généralités

Comme nous l'avons vu précédemment, la composition de la pulpe peut varier selon le degré de mûrissement. Elle peut également varier en fonction des conditions de culture, de la variété.

En règle générale, les bananes possèdent une forte teneur en glucides ou d'hydrates de carbones (environ 20 à 23%) et sont quasiment dépourvues de lipides (0,2 à 0,3%) de chlorure de sodium, d'où leur utilisation dans les régimes sans sel. Elles sont également riches en protéines, vitamines et minéraux.

Component or parameter	Unit	Sweet banana pulp				Plantain pulp	
		Ripe <sup>a</sup>	Unripe <sup>b</sup>	Dried <sup>a</sup>	Dehydrated or flour <sup>a</sup>	Unripe <sup>c</sup>	Ripe
Energy	Kcal	89	110 <sup>b</sup>	257	340	91	122 <sup>e</sup>
Water	g	74	69 <sup>b</sup>	28	3.0	63	65 <sup>e</sup>
Protein	g	1.1	1.4 <sup>b</sup>	3.0	3.9	0.8	1.3 <sup>e</sup>
Total lipid	g	0.3	0.2 <sup>b</sup>	1.0	1.8	0.1	0.37 <sup>e</sup>
Carbohydrate	g	21.8	28.7 <sup>b</sup>	63.0	82.1	24.3	32 <sup>e</sup>
Dietary fibre	g	2.0	0.5 <sup>b</sup>	5.5	7.6	5.4	2.0–3.4 <sup>e</sup>
Na	mg	1.0		8.0	3.0		4.0 <sup>e</sup>
K	mg	385.0		1150.0	1491.0		500 <sup>e</sup>
Ca	mg	8.0	8 <sup>b</sup>	20.0	22.0	7	3.0 <sup>e</sup>
Mg	mg	30		90.0	108.0	33	35.0 <sup>e</sup>
P	mg	22		75.0	74.0	35	30.0 <sup>e</sup>
Fe	mg	0.42	0.9 <sup>b</sup>	1.3	1.15	0.5	0.6 <sup>e</sup>
Cu	mg	0.11		0.4	0.39	0.16	
Zn	mg	0.18		0.5	0.61	0.1	
Mn	mg	0.2			0.57	15	
Eq. β-carotene	μg	68.0	48.3 <sup>b</sup>	150.0	183.0	0.03–1.20	390–1035 <sup>d</sup>
Vitamin E	mg	0.29		0.6		—	
Vitamin C	mg	11.7	31 <sup>b</sup>	4.0		2.0	20 <sup>d</sup>
Thiamin	mg	0.04	0.04 <sup>b</sup>	0.1	0.18	0.05	0.08 <sup>d</sup>
Riboflavin	mg	0.07	0.02 <sup>b</sup>	0.18	0.24	0.05	0.04 <sup>d</sup>
Niacin	mg	0.61	0.6 <sup>b</sup>	2.0	2.8	0.7	0.6 <sup>d</sup>
Panthenic acid	mg	0.28				0.37	
Vitamin B6	mg	0.47				—	
Total Folate	μg	23.0				0.016	
Biotin	μg	2.6				—	
Isoleucine	mg	34.0			167.0		
Leucine	mg	71.0			359.0		
Lysine	mg	50.0			162.0		
Methionine	mg	14.0			74.0		
Cystine	mg	20.0			63.0		
Phenylalanine	mg	41.0			201.0		
Tyrosine	mg	26.0			121.0		
Threonine	mg	36.0			171.0		
Tryptophan	mg	13.0					
Valine	mg	49.0			282.0		
Arginine	mg	57.0			176.0		
Histidine	mg	86.0			333.0		
Alanine	mg	43.0			222.0		
Aspartic acid	mg	120.0			503.0		
Glutamic Acid	mg	115.0			399.0		
Glycine	mg	41.0			190.0		
Proline	mg	43.0			229.0		
Serine	mg	49.0			226.0		
Dopamine	mg	65.0					
Serotonine	mg	3.3				45 <sup>c</sup>	76 <sup>c</sup>
Thiamine	mg	0.7					
Malic acid	meq	6.20 <sup>c</sup>	1.36 <sup>c</sup>				
Citric acid	meq	2.17 <sup>c</sup>	0.68 <sup>c</sup>				
Oxalic acid	meq	1.37 <sup>c</sup>	2.33 <sup>c</sup>				
Other acids	meq	0.17 <sup>c</sup>	0.19 <sup>c</sup>				

Tableau 3 – Caractéristiques de la composition chimique et biochimique de bananes dessert et bananes plantain, à différents stades physiologiques et après transformation, pour 100 g de poids frais.

(a) Ciquel, 1993)., (b) Anonymous, 1981, (c) Marriott ,1983, (d) Woolfe,1992), (e) Lassoudiere, 2007, (Aurore, 2009)

### 2.3.2 – Les glucides

Les glucides disponibles sont présents en quantités importantes dans la pulpe de la banane : 21,8 à 28 g pour 100g de pulpe. Ces glucides sont répartis en saccharose, glucose, amidon et fructose. Le saccharose est le sucre prédominant dans la banane dessert. Dans le cas de la banane plantain à maturité commerciale, c'est l'amidon.

Le mûrissement de la banane conduit principalement à la transformation de l'amidon en disaccharide (saccharose) et en monosaccharides (glucose et fructose). La composition totale en glucides des bananes dessert (e.g Cavendish) ne varie presque pas au cours du mûrissement. Seule la proportion des différents sucres varie (Mota et al, 1997 ; Fernandez et al, 1979).

#### 2.3.2.1 – L'amidon

L'amidon est le principal constituant des bananes vertes. Dans la phase pré-climactérique, la teneur moyenne en amidon au sein des bananes vertes est de 70 à 80%. Elle chute jusqu'à atteindre moins de 1% d'amidon en fin de phase climactérique, tandis que les teneurs en sucres solubles augmentent jusqu'à atteindre plus de 10% du poids du fruit frais. La disparition de la réserve amyliacée apparaît être relativement rapide en raison de la co-action de plusieurs enzymes (Cordenunsi & Lajolo, 1995, Glass and Rand, 1982).

#### a - La taille des granules d'amidon et leur apparence microscopique

En général, les granules d'amidon, quelles que soient les variétés de bananes, sont de forme irrégulière, et peuvent apparaître microscopiquement comme des ovales allongés présentant des stries (Eggleston, Swennen & akoni 1992, Ling et al. 1982, Kayisu et al, 1981 ; Zhang & Whistler, 2002). Les axes principaux des granules mesurent de 6 à 80  $\mu\text{m}$ , la majorité d'entre eux mesurant entre 20 et 60  $\mu\text{m}$ . Les anneaux de croissance ne sont pas elliptiques autour de l'hilum, comme on l'observe généralement pour la plupart des granules d'amidon. La taille et la forme des granules de l'amidon des bananes Cavendish sont très irrégulières (Ling et al, 1982). Cela va de formes plus ou moins sphéroïdes aux formes plus ou moins allongées. Les formes sphéroïdes mesurent 15 à 40  $\mu\text{m}$  de diamètre. Les formes allongées allant de 7 à 25  $\mu\text{m}$  de largeur et de 20 à 50  $\mu\text{m}$  de longueur. La surface des granules d'amidon des bananes vertes apparaît lisse alors que celle des bananes mûres présentent des stries parallèles (Kayisu et al, 1981).

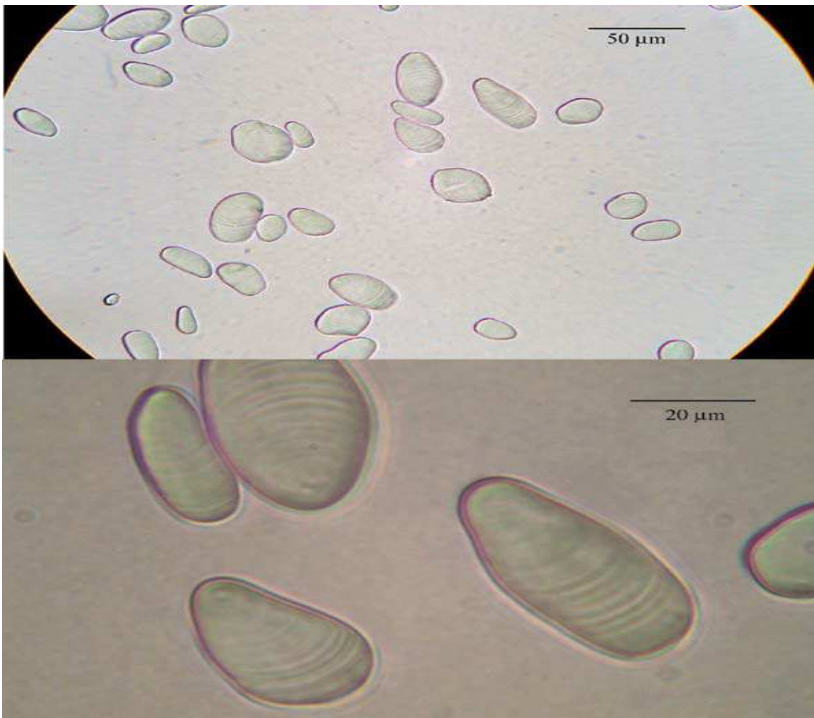


Figure 5 - Photographie de grains d'amidon de bananes plantains vertes (Zhang & Whistler, 2002).

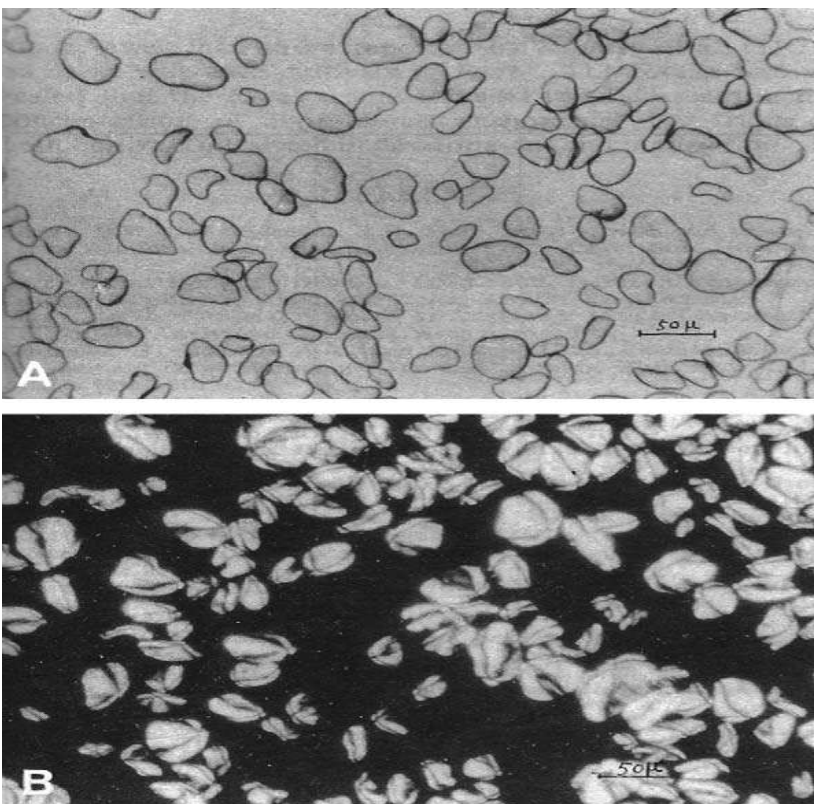


Figure 6 – Photographie de grains d'amidon de bananes vertes: (A) sous lumière normale; (B) sous lumière polarisée (Lii et al., 1982).

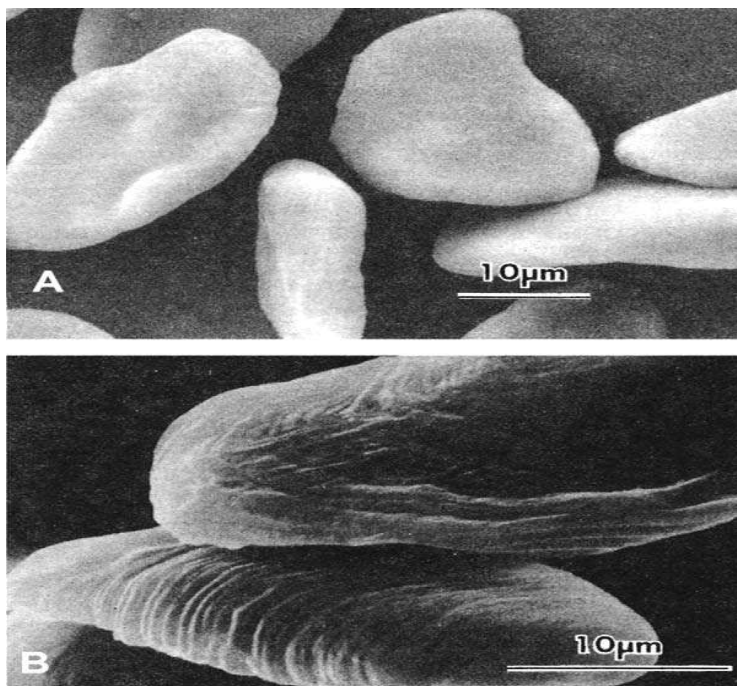


Figure 7 – Micrographies de granules d’amidon extraits de bananes vertes *Valery* (A) et mûres (B) (Kayisu et al., 1981)

### **b – L’amidon résistant des bananes**

L’amidon natif pour les bananes non cuites est fortement résistant à l’hydrolyse enzymatique (Cerning-Beroard & Le Dividich 1976, Cummings & Englyst, 1991 ; Eggleston et al, 1992, Faisant, Gallant et al, 1995 ; Fuwa et al, 1979, Sugimoto et al, 1980).

L’amidon résistant fait référence à la portion d’amidon et aux produits amylacés qui résistent à la digestion quand ils passent à travers le tractus gastrointestinal. Les propriétés physico chimiques de l’amidon résistant et plus particulièrement sa faible capacité à retenir l’eau en font un ingrédient fonctionnel qui contribue à améliorer la texture dans le produit fini (Baixauli et al, 2008) et affecte moins les propriétés sensorielles du produit fini en comparaison avec d’autres fibres traditionnelles (Charalampopoulos et al 2002).

Des analyses microscopiques ont révélé que la farine obtenue à partir de bananes non cuites contenait des granules d’amidon irréguliers avec des surfaces lisses. Une surface lisse et dense des granules d’amidon natif de ces bananes pourrait en partie contribuer à la résistance de l’amidon. De même, il est probable que les granules d’amidon aient une fine couche externe (de quelques micromètres) de blocs qui empêcheraient l’action enzymatique et réduiraient le taux d’hydrolyse

enzymatique. La densité de tels blocs serait plus forte à la périphérie des granules d'amidon de bananes. De plus, les résidus des membranes cellulaires présents dans la farine de bananes joueraient également un rôle dans la résistance en ce sens où ils masqueraient les granules d'amidon et par conséquent les protégeraient de toute attaque enzymatique (Faisant, Buléon et al, 1995 ; Tester et Karkalas, 2002).

L'amidon, non la fibre, est probablement le principal substrat pour la fermentation dans le côlon humain. Toutefois, il est difficile d'évaluer la quantité d'amidon qui résiste à l'amylase pancréatique, échappant ainsi à la digestion dans l'intestin grêle. Après ingestion par des patients avec iléostomie, 75% de l'amidon de la banane a résisté à la digestion. Dans des expériences avec des volontaires en santé, aucune trace d'amidon n'a été trouvée dans les fèces, indiquant sa fermentation complète dans le côlon par la microflore présente, un résultat potentiellement positif concernant les bénéfices santé pour le colon. En effet, la fermentation de l'amidon produirait des acides gras à chaînes courtes tels que les acides butyriques. Ces derniers ont été démontrés bénéfiques dans les symptômes de la diarrhée. En effet, ils stimuleraient l'absorption des liquides et du sel dans le côlon, diminuant ainsi la perte d'eau dans les selles. Ils amélioreraient ainsi la perméabilité de l'intestin grêle laquelle soulagerait les symptômes de la diarrhée (Rabbani et al, 2004).

### 2.3.3 – Les protéines

#### 2.3.3.1 – Les acides aminés

<b>Plantain</b>	<b>Acides aminés (mg N/g)</b>
Lysine	93
Thréonine	141
Tyrosine	89
Phénylalanine	134
Valine	167
Tryptophane	89
Isoleucine	116
Méthionine	48
Cystine	65
Total acides aminés soufrés	113
Total acides aminés essentiels	1042

Tableau 4 – Teneur en acides aminés, source FAO 1970.

#### 2.3.3.2 – Les amines : sérotonine, dopamine, norépinéphrine

Dès 1958, P. Waalkes réalisa une étude sur des extraits de pulpe de bananes dessert (Waalkes, 1958). Les amines furent identifiées par chromatographie de façon plus précise, à l'aide du réactif ferricyanure. Ainsi ont été différenciées la sérotonine, la dopamine et la norépinéphrine (Pneumans, 2002).

La pulpe de banane dessert contient en moyenne :

- 3,3 mg de sérotonine pour 100g
- 0,25 mg de norépinéphrine pour 100g
- 65 mg de dopamine pour 100g

La présence de ces composés dans un aliment aussi courant que la banane revêt un grand intérêt clinique. En effet, nous savons que la sérotonine inhibe la sécrétion gastrique et stimule le muscle lisse intestinal. La norépinéphrine est utilisée comme vasoconstricteur et la dopamine est utilisée pour son action stimulante sur le système cardiovasculaire. Une basse température induit parfois l'oxydation de la dopamine en substances colorées sombres.

La concentration en sérotonine dans la peau et dans la pulpe, de toutes les variétés de bananes dessert (Waalkes, 1958), décroît quand le fruit mûrit. La concentration en dopamine dans la pulpe du fruit décroît pendant le mûrissement post-récolte alors que dans la peau, elle augmente (Waalkes, 1958).

Pulp *		Entire peel **	
<i>µg/g</i>	<i>mg/banana</i>	<i>µg/g</i>	<i>mg/banana</i>
Serotonin			
28	3,7	65	3,9
Norepinephrine			
1,9	0,25	122	7,3
Dopamine			
7,9	1	700	42
† Average wt of pulp 133 g			
** Average wt of peel 60 g			

Tableau 5- Les valeurs indiquées représentent des teneurs moyennes enregistrées au sein des bananes dessert jaunes mûres. P. Waalkes (1958)

#### 2.3.4 – Les lipides

Les lipides ou substances grasses ne dépassent pas 0,3%. La banane est un fruit dont l'essentiel énergétique provient des glucides.



Les acides gras, stérols et steryl esters sont les principales familles de constituants lipophiles présents au sein des bananes, puis les diacylglycerols, steryl glucosides, longues chaînes d'alcool gras et les composés aromatiques. Les acides gras et en particulier les acides linoléiques, linoléiques et oléiques sont les plus abondants au sein de la pulpe de banane (29 - 90% de l'extrait lipophile de banane).

tr (min)	compound	pulp	peel	tr (min)	compound	pulp	peel
	fatty acids	4348	7234		diacylglycerols	119	878
	saturated	1569	3376	36.8	1,2-dipalmitoylglycerol	13	39
23.3	lauric acid	5	29	37.1	1,3-dipalmitoylglycerol	<5	46
27.1	azelaic acid	<5	94	38.3	1,2-(palmitoyl,linoleoyl)glycerol	51	325
28.4	myristic acid	15	51	38.4	1,2-(palmitoyl,linolenoyl)glycerol	30	250
30.9	pentadecanoic acid	59	59	38.6	1,3-(palmitoyl,linoleoyl)glycerol	13	91
33.2	palmitic acid	1305	1990	38.8	1,3-(palmitoyl,linolenoyl)glycerol	12	127
35.4	heptadecanoic acid	26	57		steryl glucosides	292	878
37.5	octadecanoic acid	124	312	42.8	campesteryl 3 $\beta$ -D-glucopyranoside	30	218
39.5	nonadecanoic acid	5	14	43.0	stigmasteryl 3 $\beta$ -D-glucopyranoside	9	137
41.4	icosanoic acid	7	36	43.5	sitosteryl 3 $\beta$ -D-glucopyranoside	253	523
43.3	henicosanoic acid	<5	11		steryl esters	469	24405
45.1	docosanoic acid	5	124	45.6	stigmasteryl palmitate	ND	327
46.9	tricosanoic acid	<5	31	46.1	cycloeucalenyl palmitate	66	7441
48.6	tetracosanoic acid	12	201	46.2	cycloartenyl palmitate	67	2727
50.2	pentacosanoic acid	6	53	46.7	24-methylenecycloartenyl palmitate	94	7293
51.8	hexacosanoic acid	<5	64	47.6–47.7	cycloeucalenyl and cycloartenyl linoleates	149	3790
53.3	heptacosanoic acid	ND	20	48.2	24-methylenecycloartenyl linoleate	93	2827
57.8	triacontanoic acid	ND	230		nonidentified	39	172
	unsaturated	2779	3858				
32.5	palmitelaidic acid	316	78				
36.7	linoleic acid	1303	1720				
36.8	$\alpha$ -linolenic acid	553	1697				
36.8	oleic acid	607	363				

<sup>a</sup> The presented results are the average of the concordant values obtained (less than 5% variation between injections) for the two aliquots of each sample injected in triplicate. ND, not detected.

	sterols	530	10918
54.8	campesterol	76	308
55.3	stigmasterol	65	633
55.6	24-methylenepollinastanol	<5	ND
55.8	31-norcyclolaudenone	9	2112
55.9	cycloeucalenone	35	6517
56.2	$\beta$ -sitosterol	325	650
56.3	n.i. triterpene ketone	ND	367
56.3	isofucosterol	20	ND
56.8	cycloaeucalenol	ND	100
56.9	cycloartenol	<5	231
57.7	24-methylenecycloartanol	ND	103
	aromatic compounds	ND	<5
29.9	<i>cis</i> -ferulic acid	ND	<5
30.3	<i>p</i> -coumaric acid	ND	<5
33.9	<i>trans</i> -ferulic acid	ND	<5
	long chain fatty alcohols	32	503
31.4	hexadecan-1-ol	8	33
35.1	<i>Z</i> -octadec-9-en-1-ol	18	44
35.8	octadecan-1-ol	6	29
41.1	henicosan-1-ol	<5	33
43.6	docosan-1-ol	<5	14
47.2	tetracosan-1-ol	<5	16
50.5	hexacosan-1-ol	<5	58
53.6	octacosan-1-ol	<5	84
55.0	nonacosan-1-ol	ND	36
56.5	triacontan-1-ol	<5	156
	aromatic compounds	ND	<5
29.9	<i>cis</i> -ferulic acid	ND	<5
30.3	<i>p</i> -coumaric acid	ND	<5
33.9	<i>trans</i> -ferulic acid	ND	<5
	long chain fatty alcohols	32	503
31.4	hexadecan-1-ol	8	33
35.1	<i>Z</i> -octadec-9-en-1-ol	18	44
35.8	octadecan-1-ol	6	29
41.1	henicosan-1-ol	<5	33
43.6	docosan-1-ol	<5	14
47.2	tetracosan-1-ol	<5	16
50.5	hexacosan-1-ol	<5	58
53.6	octacosan-1-ol	<5	84
55.0	nonacosan-1-ol	ND	36
56.5	triacontan-1-ol	<5	156
	tocopherols	10	106
49.5	$\delta$ -tocopherol	ND	ND
51.0	$\gamma$ -tocopherol	<5	34
53.2	$\alpha$ -tocopherol	10	72
	other compounds/nonidentified compounds	46	420

Tableau 6 – Composés identifiés dans le dichloromethane, Extraits de pulpe et peau de bananes immature “ dents Dwarf Cavendish », après hydrolyse alcaline- Expression en mg de composé/kg de matière sèche (Oliveira, 2007).

## 2.4 – Evolution de la composition du fruit au cours du mûrissement

La plupart des substances telles que les glucides, les composés organiques volatiles, les tanins qui entrent dans la composition de la banane verte subissent des transformations (Kajuna, 1997).

La quantité de glucides diminue du fait de la respiration, ils sont oxydés et transformés en eau et en CO<sub>2</sub>.

Les tanins diminuent et des substances nouvelles prennent naissance : de l'alcool éthylique, l'acétate d'amyle et donnent leur arôme au fruit. L'acidité augmente.

La perte de fermeté, la couleur de la peau sont utiles pour apprécier le stade de murissage des bananes dessert Cavendish (Peleg, 1977 ; Ramawamy, 1989). Au cours du murissage des bananes, on observe une diminution de la teneur en amidon, de la teneur en pectines et de la teneur en hémicellulose des parois cellulaires. On peut également observer une augmentation de la teneur en sucres (degré brix) suite à l'hydrolyse de l'amidon, une augmentation de la matière sèche de la peau liée au fait que la pulpe s'enrichit en eau, la peau cédant une partie de son eau ou encore du ratio de matière sèche de la pulpe par rapport à la peau (Asiedu, 1987; Marriott, 1981).

Certaines études ont montré qu'il y avait, en cours de mûrissement une dégradation des polysaccharides de poids moléculaires élevés de la pulpe (Kojima, 1992) et une augmentation du caractère extractible des polyuronides, sans qu'il y ait dépolymérisation (Wade, 1992). Cheng (2008) a depuis peu confirmé que la modification et la dépolymérisation des polysaccharides hémicellulosiques seraient en fait responsables du ramollissement de la banane dessert. Si la perte de fermeté ou l'abaissement du module d'élasticité ont été suggérés comme étant liés à la diminution de la teneur en amidon de la pulpe du fruit (Collin, 1991), a contrario, Cano et al (1997) ont démontré l'absence de corrélation entre la teneur en amidon ou de la teneur en pectines et la fermeté (mesurée par voie instrumentale ou sensorielle) de la pulpe, à un stade donné de maturité.

Stage	Peel color	Starch (%)	Reducing sugar (%)	Sucrose (%)	Gelatinization temperature (°C)
1	Green	61.7	0.2	1.2	74 - 81
2	Green	58.6	1.3	6.0	75 - 80
3	Green/ a trace of yellow	42.4	10.8	18.4	77 - 81
4	More green than yellow	39.8	11.5	21.4	75 - 78
5	More yellow than green	37.6	12.4	27.9	76 - 81
6	Yellow with a green tip	9.7	15.0	53.1	76 - 80
7	All yellow	6.3	31.2	51.9	76 - 83
8	Yellow/ a few brown spots	3.3	33.8	52.0	79 - 83
9	Yellow/ many brown spots	2.6	33.6	53.2	

Tableau 7 – Composition de la partie comestible de la banane à différents stades selon la classification de la couleur de peau de (Li, 1982)

## 2.5 - Impact des saisons sur l'évolution des fruits

### 2.5.1 – Effets des conditions de production sur la durée de vie verte

Les études ont montré que les facteurs environnementaux ayant le plus fort impact sur la texture et la couleur des bananes mûres étaient climatiques : température journalière et cumul des précipitations durant la croissance du régime de bananes. Ces paramètres climatiques doivent par conséquent être pris en considération dans l'évaluation de la qualité, quand on étudie le développement des bananes.

Par ailleurs, Bugaud et al., (2006, 2007), Chillet (2006), ont montré que les variations climatiques n'avaient pas d'effet sur la durée de vie verte en saison de pluies pour une même somme de température donnée.

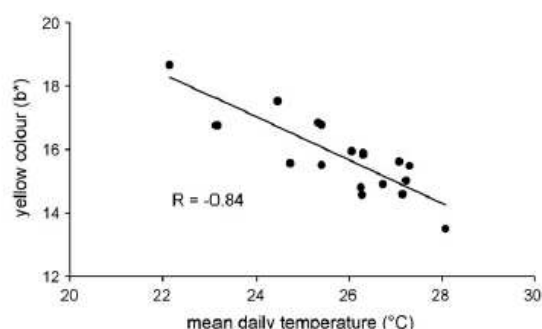
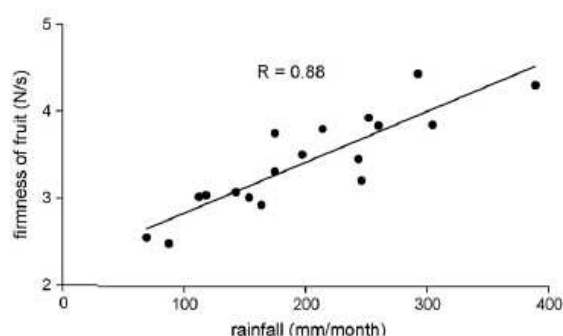


Figure 8 - (à gauche) - Corrélation entre les précipitations au cours de la croissance et la fermeté des fruits mûrs. Chaque point est la moyenne de 5 répétitions. Source Bugaud, 2007

Figure 9 - (à droite) - Corrélation entre la température moyenne journalière durant la croissance du régime et la couleur jaune (b \*) des fruits mûrs. Chaque point est la moyenne de 5 répétitions. Source Bugaud, 2007

## **Chapitre 3 - Les molécules d'intérêt santé au sein de Musa**

Dans les Harmonies de la nature, Bernardin de Saint Pierre a écrit : « la banane donne à l'homme de quoi le nourrir, le loger, le meubler, l'habiller et même l'ensevelir », mais peut-elle aussi le soigner ?

### **1 – Les composés phénoliques**

#### **1.1 – Généralités**

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants (Salunkhe, 1990). Les composés phénoliques naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins. Les polyphénols les plus répandus dans le règne végétal sont les flavonoïdes et les tanins. Leur biodisponibilité est fonction de leur structure. Les polyphénols sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques et possèdent d'autres fonctions carboxyliques, alcooliques... .

Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples (acides phénols et coumarine), en naphtoquinones, en stilbénoides (deux cycles C6 liés par C2), en flavonoïdes (isoflavonoïdes et anthocyanes (structure C6-C3-C6) et en formes polymérisées (lignanés, lignines, tanins). Ces squelettes carbonés de base sont issus des métabolites secondaires des plantes.

Dans le cas de la banane, les teneurs en polyphénols totaux sont plus élevées dans la peau (907 mg/100 g d'extrait sec) que dans la pulpe de banane (232 mg/ 100 g d'extrait sec). Ce résultat est à corrélérer avec l'activité anti-oxydante. En effet, les extraits issus des peaux de banane ont une activité 2 fois supérieure à celle des extraits issus de la pulpe, pour des temps d'incubation identiques. Cette différence doit être attribuée à la quantité de polyphénols présents (Someya et al, 2002).

#### **1.2 – Classification des composés phénoliques**

Ce tableau 8 est inspiré de Marcheix (2005), et de Bruneton (1999).


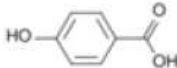
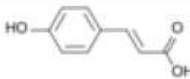
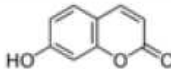
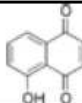
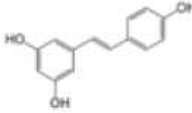
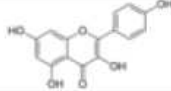
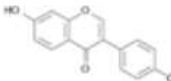
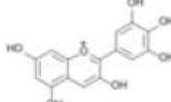
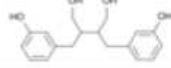
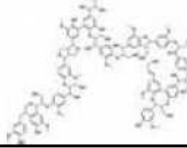
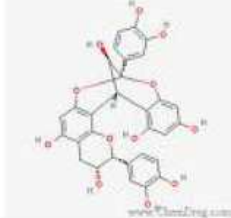
COMPOSES PHENOLIQUES				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	<u>Phénols simples</u>	Hydroquinone		<u>Busserole</u>
C6-C1	<u>Acides hydroxybenzoïques</u>	Acide p-hydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	<u>Acides hydroxycinnamiques</u>	Acide p-coumarique		Tomates, ail
	<u>Coumarines</u>	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	<u>Naphtoquinones</u>	Juglone		Noix
C6-C2-C6	<u>Stilbénoides</u>	Trans-resvératrol		Raisin
C6-C3-C6	<u>Flavonoïdes</u>	Kaempférol		Fraises
	<u>Isoflavonoïdes</u>	Daidzéine		Graines de soja
	<u>Anthocyanes</u>	Delphinidol		Raisin Cabernet-Sauvignon
(C6-C3) <sub>2</sub>	<u>Lignanes</u>	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3) <sub>n</sub>	<u>Lignines</u>			Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	<u>Tanins condensés</u>	Procyanidol		Raisins, kaki

Tableau 8- Classification des composés phénoliques (Marcheix, 2005).

### 1.3 - La dopamine, un composé phénolique simple

Les végétaux contiennent des phénols de structure simple dont le squelette est basé sur le C6-C1. Ces composés dérivent de la voie biosynthétique des phénylpropanes suivies par une dégradation du squelette C6-C3 initialement formé.

La dopamine est un composé phénolique simple. Elle est caractérisée par un pouvoir antioxydant plus fort que celui de la quercétine, de la luteoline et de la catéchine et un pouvoir similaire aux plus forts des antioxydants tels que la gallocatéchine gallate et l'acide ascorbique.

La dopamine appartient à la famille des catécholamines et joue aussi un rôle de vasodilatateur des coronaires. Elle stimule l'inotropisme cardiaque.

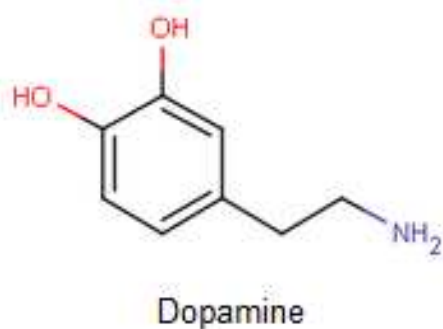


Figure 10 - Formule chimique de la dopamine

### 1.4 - Les flavonoïdes

#### 1.4.1 – Généralités sur les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement présents dans le règne végétal. Ils représentent les polyphénols les plus distribués dans la nature et sont consommés régulièrement sous forme de fruits, de légumes ou dans des boissons tels que le vin, le thé, le café, la bière. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant des activités biologiques telles que des propriétés anti-inflammatoires, anti néoplastique et hépatoprotectrice (Havsteen, 1983), vasculoprotectrice, anti allergique, antiulcéreuse et anti tumorale. Ils ont par exemple été cités pour leur rôle d'inhibiteur des sécrétions acides des cellules

pariétales gastriques (Beil, 1995). Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels.

#### 1.4.2 – La biosynthèse des flavonoïdes

La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun : la 4, 2', 4', 6'- tétrahydroxychalcone. La cyclisation de cette chalcone stéréospécifique par la chalcone isomérase forme la (S)-4',5, 7- trihydroxyflavanone conduisant au squelette de base des flavanoïdes.

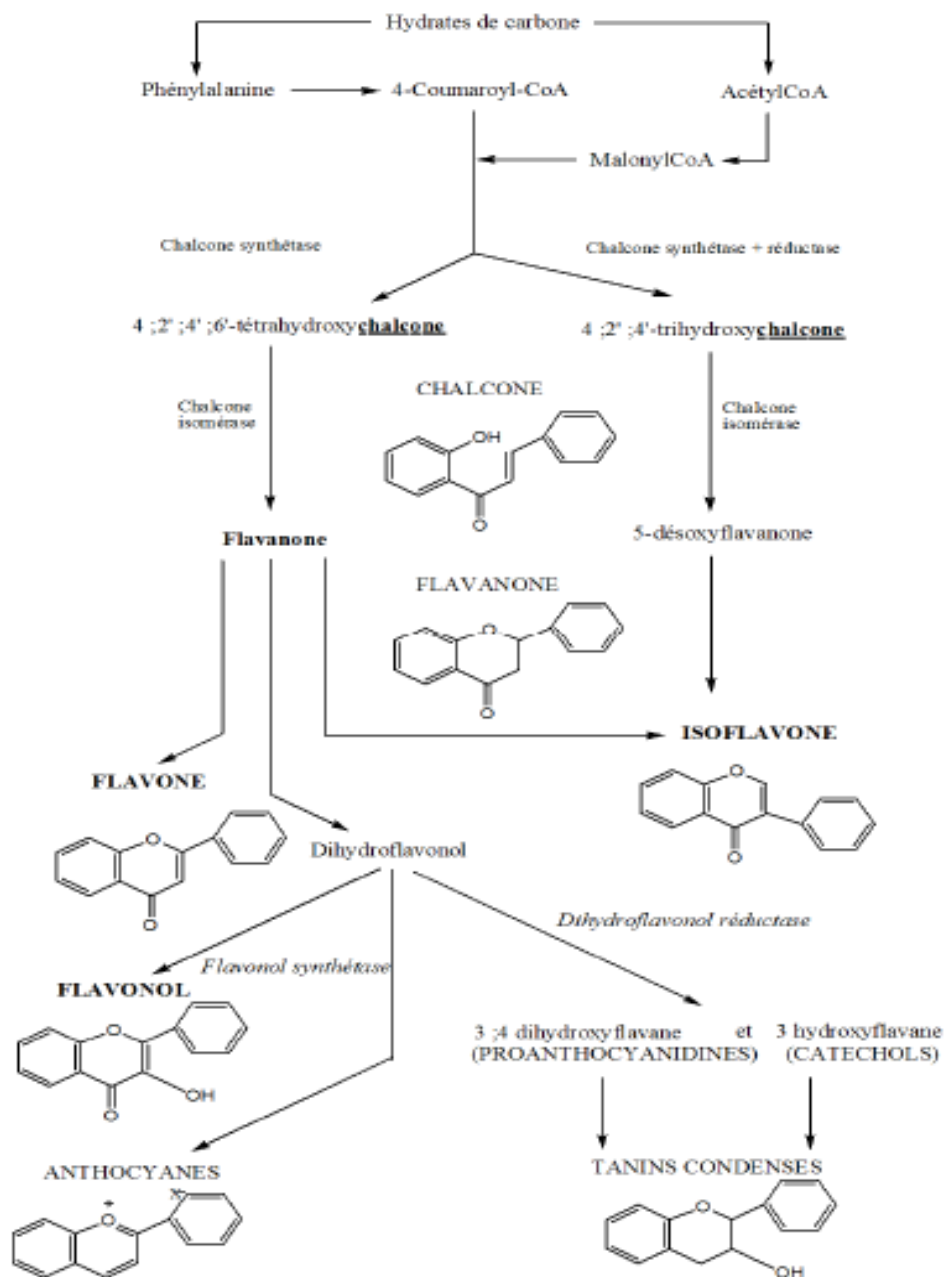


Figure 11 – Synthèse des flavonoïdes

#### 1.4.3 - Structure et classification



Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C<sub>6</sub> (A et B), reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> (figure 12) [Bruneton, 1999].

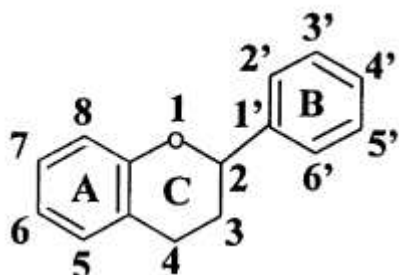


Figure 12 : Squelette de base des flavonoïdes [Cook et al, 1996]

Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo-  $\gamma$  pyrone et peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo-  $\gamma$  pyrone.

Les flavonoïdes au sens strict sont des composés dont la substitution par un noyau benzénique se fait en position 2. Les composés présentant une substitution en position 3 sont désignés par le terme isoflavonoïde. Plusieurs sous-groupes existent selon le degré d'insaturation et d'oxydation de l'hétérocycle (Fengel et Wegener, 1984). Selon la nature de l'hétérocycle ( $\gamma$  pyrone ou son dihydro dérivé), on distingue :

- les flavones et les flavonols
- les flavanones, les flavanols et dihydroflavanols

Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou génines ou d'hétérosides. Flavones et flavonols sont les composés flavonoidiques les plus répandus, notamment avec la quercétine, l'apigénine. Les flavanones (naringénine) et les flavanols (catéchines) ainsi que les dihydroflavonols (dihydrokaempferol, dihydroquercétine) et les dihydroflavan – 3,4-diols (leucocyanidol) sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte.

Les flavonoïdes existent généralement dans la nature sous forme hydroxylée et combinés à diverses molécules, ce qui explique la grande variété de ces composés (figure 13). La présence de glucides ou groupements méthyle sur les hydroxyles phénoliques est très fréquente. Pour la plupart des flavonoïdes, la chaîne aliphatique propane est incluse dans un hétérocycle pyrane. Toutefois, il existe d'autres molécules pour lesquelles la chaîne propane, qui relie les deux cycles A et B, présente des squelettes différents à savoir : chalcones, auronnes, isoflavones.

Class	General structure	Flavonoid	Substitution Pattern	Dietary Sources	TEAC (mM)
Flavanol		(+)-catechin	3,5,7,3',4'-OH	Tea (camellia sinensis) <sup>6</sup>	2.4
		(-)-epicatechin	3,5,7,3',4'-OH	Tea <sup>8</sup>	2.5
		Epigallocatechin gallate	3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallate	Tea <sup>6</sup>	4.75
Flavone		chrysin	5,7-OH	Fruit skins	1.43
		apigenin	5,7,4'-OH	Parsley, celery	1.45
		rutin	5,7,3',4'-OH, 3-rutinoside	Red wine <sup>5</sup> , buckwheat <sup>7</sup>	2.4
		luteolin	5,7,3',4'-OH	citrus, tomato skin <sup>8</sup>	2.1
Flavonol		luteolin glucosides	5,7,3'-OH, 4'-glucose	Red pepper <sup>11</sup>	1.74
			5,4'-OH, 4',7-glucose		0.79
		kaempferol	3,5,7,4'-OH	Leek, broccoli, endives	1.34
		quercetin	3,5,7,3',4'-OH	grapefruit, black tea	4.7
Flavonone (dihydroflavon)		myricetin	3,5,7,3',4',5'-OH	Onion, lettuce, broccoli	3.1
		tamarixetin	3,5,7,3'-OH,4'-OMe	tomato, tea, red wine	
		naringin	5,4'-OH,7-rhamnoglucose	berries, olive oil, appleskin	
		naringenin	5,7,4'-OH	Cranberry grapes, red wine	3.1
Isoflavone		taxifolin	3,5,7,3',4'-OH	Citrus, grapefruit	0.24
		eriodictyol	5,7,3',4'-OH	Citrus fruits	1.53
		hesperidin	3,5,3'-OH,4'-OMe, 7-rutinoside	Lemons <sup>6,4</sup>	1.9
		genistin	5,4'-OH, 7-glucose	Oranges <sup>9</sup>	1.8
Anthocyanidin		genistein	5,7,4'-OH		1.08
		daidzin	4'-OH, 7-glucose	Soybean <sup>10</sup>	1.24
		daidzein	7,4'-OH	Soybean <sup>10</sup>	2.9
		apigenidin	5,7,4'-OH	Soybean <sup>10</sup>	1.15
		cyanidin	3,5,7,4'-OH,3,5-OMe	Soybean <sup>10</sup>	1.25
				Colored fruits	2.35
				Cherry, raspberry, strawberry	4.42

Figure 13 - Classification, structure, sources alimentaires et activités antioxydantes des flavonoides exprimées en Trolox équivalent (TEAC). De fortes valeurs TEAC traduisent de fortes capacités antioxydantes. Un groupe « 3-hydroxy » libre et une structure 3\_, 4\_-catéchol (dihydroxy), une double liaison 2-3 et un groupe 4-oxo dotent le flavonoïde d'une activité supérieure aux isoformes dépourvues de ces fonctions. Une substitution glycosidique diminue la valeur TEAC (Kelly 2002).

Class	Examples
<i>Flavonoids</i>	
Flavonols	Quercetin, kaempferol, myricetin
Flavones	Luteolin, apigenin
Isoflavones	Daidzein, genistein
Flavanones	Hesperetin, naringenin
Flavanols	
Catechins (monomers)	Catechin, epicatechin, gallic acid
Proanthocyanidins (polymers)	Procyanidins, prodelphinidins
Anthocyanins	Cyanidin, delphinidin
<i>Phenolic acids</i>	
Cinnamic acids	Caffeic acid, ferulic acid, chlorogenic acid
Benzoic acids	Gallic acid
Ellagitannins	Casuarictin, sanguin H6

Tableau 9 – Classification des polyphénols selon leur structure chimique

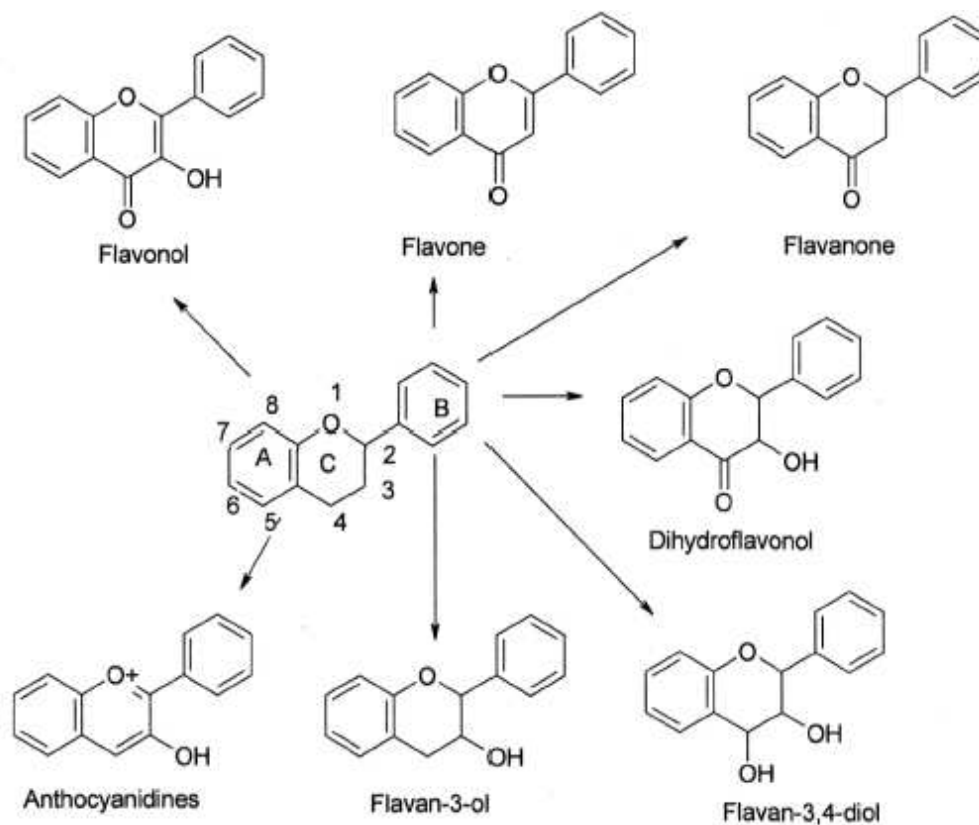


Figure 14 - Famille des flavonoides

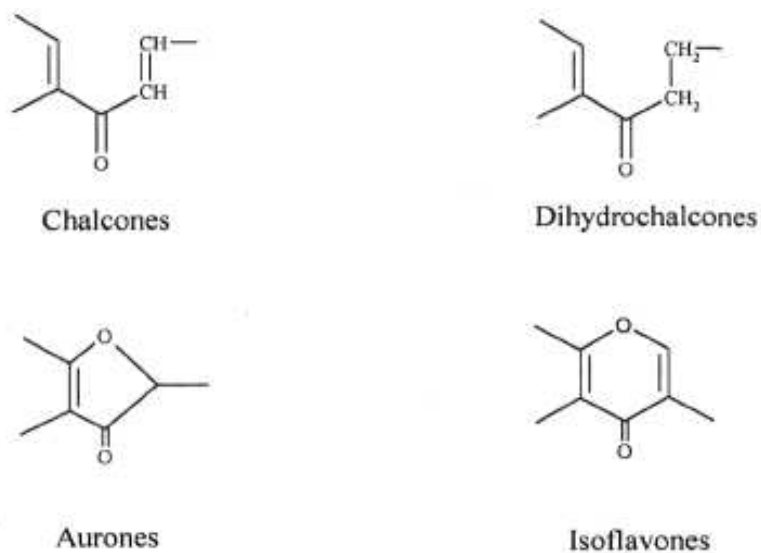


Figure 15 - Structure de d'autres types de flavonoïdes

#### 1.4.4 – La catéchine, un flavanol, une sous-classe de flavonoïdes

Les catéchines sont des flavanols, une classe de flavonoïdes. Les catéchines montrent des effets antioxydants marqués contre la peroxydation lipidique (Kondo, 1999) et des effets protecteurs contre des pathologies telles que les cancers et maladies cardiovasculaires. Ils ont été reconnus comme les meilleurs antioxydants en phytochimie.

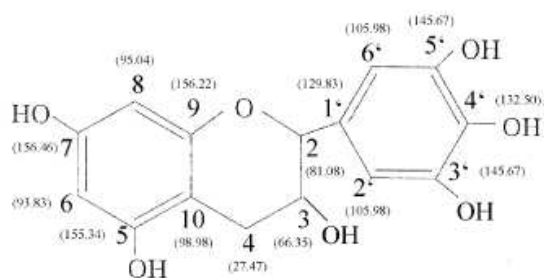


Figure 16 – Structure des catéchines

L'identification des antioxydants de la banane a révélé la présence de gallocatechines au sein de la peau et de la pulpe. Les extraits de peaux de banane (158mg/ 100g d'extrait sec) sont plus riches en gallocatechines que ceux de pulpe (29,6mg/ 100g d'extrait sec). Ces extraits ont montré, par conséquent, une activité antioxydante supérieure à celle de la pulpe de banane. Par conséquent, la teneur en gallocatechines participe à la capacité antioxydante des bananes (Someya et al, 2002).

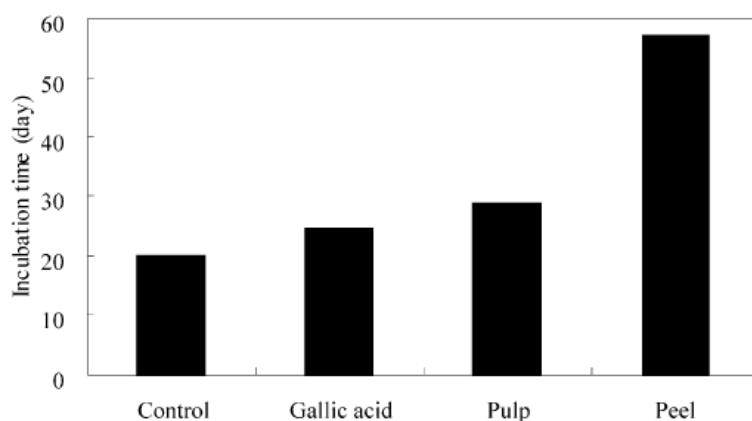


Figure 17- Effets d'extraits de banane sur l'auto-oxydation des lipides. Des extraits de pulpe de bananes (1 mg/ml, pulpe), de peaux de bananes (1 mg/ml, peau), 0.5 mM d'acide gallique et de l'eau distillée (contrôle) ont été utilisés pour l'essai antioxydant. Les temps d'incubation sont comparés à 0,3 d'absorbance 500 nm. (Someya et al, 2002).

#### 1.4.5 – La leucocyanidine, un anthocyanidine, une sous-classe de flavonoïdes

Les principaux composants de ce groupe de composés polyphénoliques sont les flavan 3,4 diols (aussi connus comme les leucoanthocyanidines) (Simmonds, 1954).

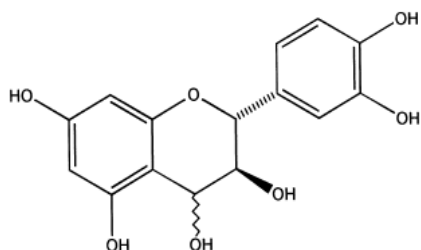


Figure 18 - Formule chimique de la leucocyanidine (3,3', 4,4', 5, 7- hexahydroxyflavan))

#### 1.5 – Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau, dont les masses molaires se situent entre 500 et 3000. En sus, de présenter les réactions caractéristiques des phénols, ils sont en général capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les autres protéines (Stévanovic, 2005). Cette réactivité avec les protéines est à l'origine des propriétés tannantes qu'ils exercent sur le collagène de la peau au cours de la transformation de la peau en cuir, la rendant imputrescible et moins perméable à l'eau. Les tanins sont très répandus dans le monde végétal, leur teneur et leur nature varient d'une espèce à l'autre. On distingue, d'après leurs structures et leurs propriétés, deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

##### 1.5.1 – Les tanins hydrolysables

On les classe en deux catégories :

- les gallotanins qui libèrent de l'acide gallique et leurs dérivés galloylés (depsides)
- les ellagitannins qui libèrent par hydrolyse de l'acide gallique accompagné par les acides ellagique, hexahydroxydiphénique, valonique.

En général, les tanins hydrolysables ont un poids moléculaire plus faible et précipitent les protéines beaucoup moins que les tanins condensés (Jarrige, 1995). Ils sont caractérisés par une partie centrale de polyol (dans la plupart des cas,  $\beta$  – D- glucose) dont les fonctions hydroxyles sont

estérifiées avec l'acide gallique (figure 19). Le 1, 2, 3, 4, 6- pentagalloyl glucopyranose occupe une place centrale dans la biosynthèse des tanins hydrolysables (Gross, 1999).

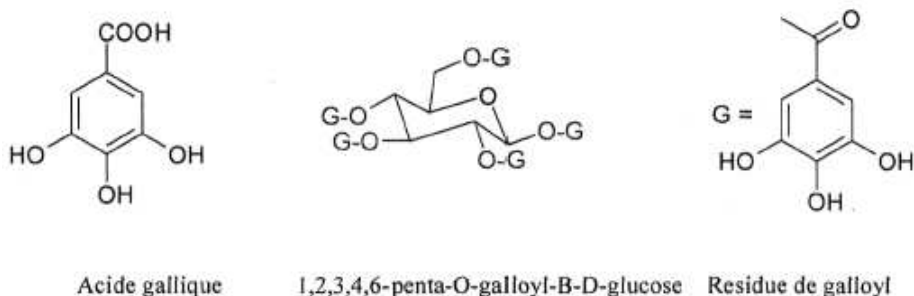


Figure 19 - Structures fondamentales des tanins hydrolysables

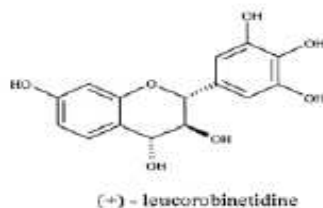
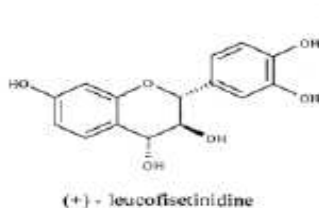
### 1.5.2 – Les tanins condensés

Les oligomères hétérogènes dont la structure est liée aux flavan-3-ols et flavan-3,4-diols, sont nommés les proanthocyanidines ou les tanins condensés. Ils ont plusieurs propriétés communes avec les tanins hydrolysables, telles que la précipitation des protéines en solution aqueuse et l'astringence caractéristique au niveau de la langue.

Les tanins condensés ont été nommés pendant longtemps les leucoanthocyanidines. Actuellement, ce nom est réservé aux flavan 3,4-diols. Les leucoanthocyanidines sont en effet les proanthocyanidines monomères, tandis que les vrais tanins condensés qui possèdent une efficacité tannante et astringente optimale se retrouvent parmi les dimères, les trimères et les oligomères proanthocyanidines (figure 20).

Les unités de monomères sont principalement liées par des liaisons C-C entre les carbones 4-6 ou 4-8. En règle générale, les monomères constitutifs des proanthocyanidines liés entre eux par des liaisons C-C 4-6 (Porter, 1992). De plus, les unités monomères peuvent être liées en d'autres positions dans la chaîne polymérique. Les proanthocyanidines sont donc des polymères irréguliers (Porter, 1992). D'un point de vue structural les proanthocyanidines formés par des liaisons C-C 4-8 entre deux molécules de flavan-3-ols sont appelés dimères de type B. Par contre, les dimères de type A sont constitués des unités de 5-déoxyflavan-3-ol qui sont préférablement liés par des liaisons C6C 4-6. Ces dimères sont à la base des systèmes des tanins condensés de type résorcinol. Ils proviennent majoritairement de deux familles : Leguminosae et Anacardiaceae.

A) Flavan-3,4-diols



B) Flavan-3-ols

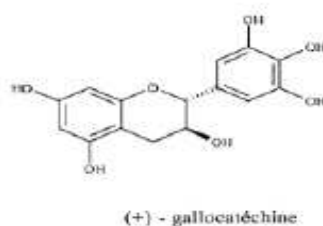
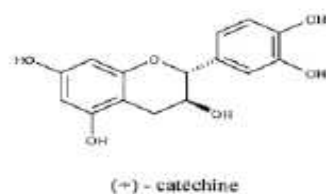
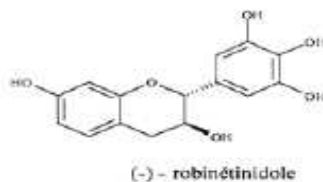
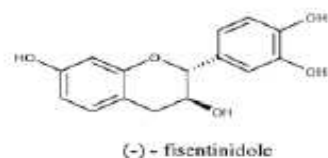


Figure 20 - Les molécules monomères de tanins condensés (d'après Diouf 2003)

## 2 – Les phytostérols

### 2.1 - Les stéryl glucosides

Quelques stéryl glucosides tels que le campesteryl 3-  $\beta$ - D glucopyranoside, stigmasteryl 3-  $\beta$ - D glucopyranoside et le sitosteryl 3-  $\beta$ - D glucopyranoside ont été identifiés comme les principaux constituants des bananiers (838.4–1824.3 mg de stéryl glucosides /kg MS) (Oliveira, 2005) mais aussi des fruits (273 – 888 mg d'acylstéryl glucosides/ kg MS). Bien que ces composants soient très présents dans le règne végétal, on ne les retrouve qu'en très petites quantités chez la plupart des espèces. C'est le cas de *Musa paradisiaca* qui ne présente que des traces (Ghoshal et Saini, 1984). Les glucosides stérylés appartiennent à la famille des phytostérols. Les phytosterols sont connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé, associés au régime alimentaire, notamment leur capacité à réduire le cholestérol sanguin. Récemment, les phytostérols et notamment le dérivé du  $\beta$  sitosterol a retenu l'attention en raison de ses propres propriétés. Des propriétés pharmacologiques de type anti-

inflammatoires, hépatoprotectrices, ont été attribuées au –  $\beta$  sitosteryl glucoside. Cependant, ses activités anti-mutagène et anti-tumorales sont les plus notables.

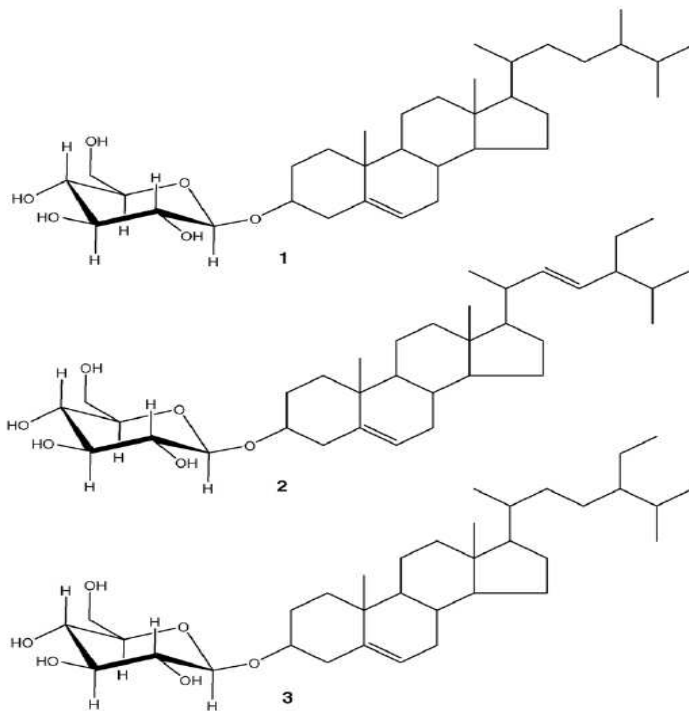


Figure 21- Structures des 1-3 steryl glucosides identifiés dans différentes fractions morphologiques de *M. acuminata Colla var Cavendish* (Oliveira et al., 2005)

#### 2.1.1 - Les sitoindosides IV

Les sitoindosides IV ou 3-(2'-O- palmitoyl-myo-inosityl-(1'-6)- glucopyranoside) sitosterol. Ce sont des molécules présentes uniquement dans trois espèces végétales :

- *Musa paradisiaca*
- *Gnetum pendulum*
- *Cremanthodium ellisii*



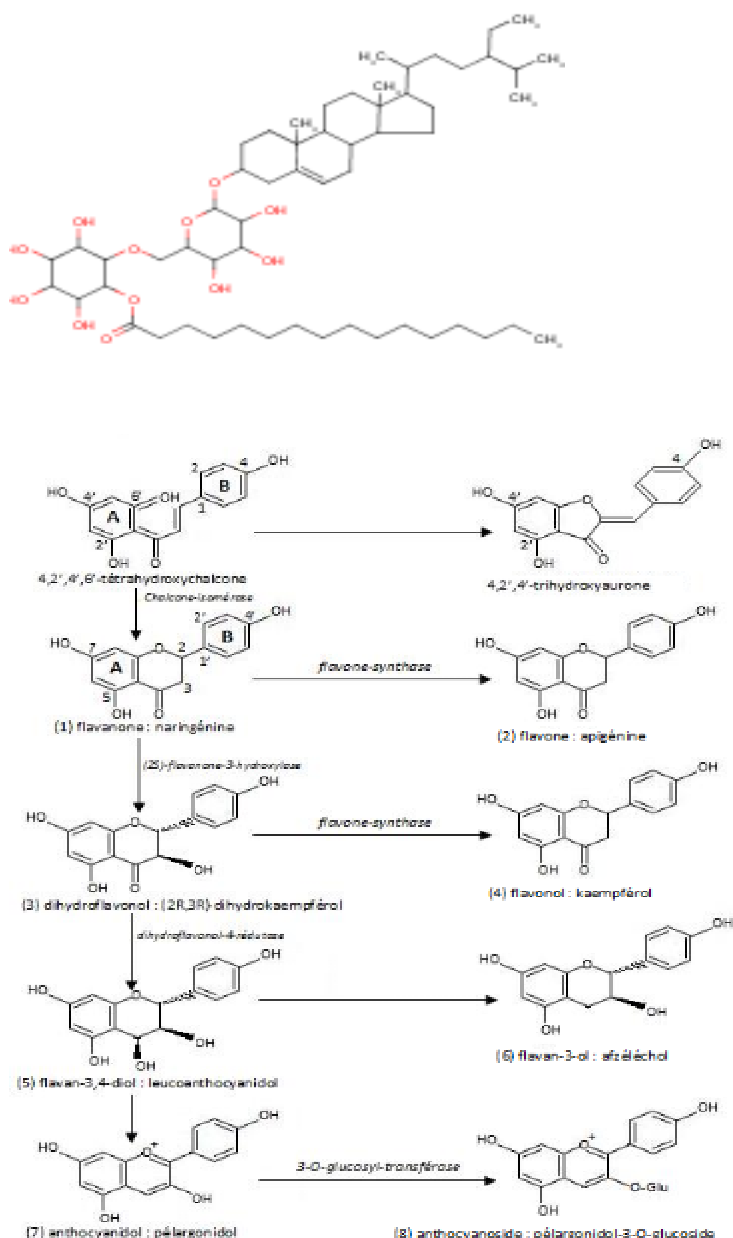


Figure 22 - Structure de la molécule de sitoindoside IV (Oliveira et al, 2005)

### 3- L'amidon résistant

L'amidon résistant fait référence à la fraction d'amidon qui n'est pas hydrolysé en D-glucose dans le petit intestin, 120 min après son ingestion mais qui est fermenté dans le colon. Quelques études ont montré que l'amidon résistant est une molécule linéaire de  $\alpha$ - 1- 4 D- glucane, essentiellement dérivé d'une fraction d'amylose rétrogradé et avec un poids moléculaire relatif de  $1,2 \times 10^5$  Da (Tharanathan, 2002).

Les aliments contenant de l'amidon résistant donnent généralement une réponse glycémique faible parce que cet amidon n'est pas digestible dans le petit intestin. En effet, l'amidon résistant passe dans le gros intestin où il est fermenté.

- RS1: l'amidon peut échapper à la digestion s'il est enchevêtré dans une matrice qui le rend inaccessible aux enzymes digestives,
- RS2: certains amidons sont connus pour avoir des granules qui résistent à la digestion,
- RS3: certains amidons sont cuits et refroidis, non granulés et parfois ramifiés, formes qui se réassocient et cristallisent (RS3),
- RS4: finalement les amidons qui sont structurellement modifiés deviennent résistants.

Des exemples d'amidon de type RS2 incluent les granules d'amidon de bananes vertes. Lorsqu'ils sont cuits dans de l'eau, ces amidons perdent de leur résistance.

De nombreuses études ont mis en évidence les effets bénéfiques des amidons résistants sur la santé, notamment leurs rôles dans les désordres, troubles digestifs (J.L Ble et al, 2011 ; Fuentes-Zaragoza et al 2011).

L'amidon résistant est moins énergétique que l'amidon digestible. Il est également moins hyperglycémiant et hyperinsulinémiant que d'autres aliments amylacés plus digestibles. En raison de leur faible pouvoir hyperinsulinémiant, il pourrait être bénéfique dans la prévention du diabète de type 2, de l'obésité ou des maladies cardiovasculaires. Ces amidons pourraient également servir à la prévention de certaines maladies telles que le cancer ou certaines maladies inflammatoires du colon. Ceci serait lié à l'un des acides gras à chaîne courte produit au cours de la fermentation colique, l'acide butyrique qui est reconnu comme essentiel à la santé du colon.

Type of starch	Description	Digestion in small intestine	Resistance reduced by	Food sources
RS1	Physically inaccessible to digestion by entrapment in a non-digestible matrix	Slow rate; partial degree Totally digested if properly milled	Milling, chewing	Whole or partly milled grains and seeds, legumes, pasta
RS2	Ungelatinized resistant granules with type B crystallinity, slowly hydrolyzed by $\alpha$ -amylase	Very slow rate; little degree Totally digested when freshly cooked	Food processing and cooking	Raw potatoes, green bananas, some legumes, high-amylose starches
RS3	Retrograded starch formed when starch-containing foods are cooked and cooled	Slow rate; partial degree Reversible digestion: digestibility improved by reheating	Processing conditions	Cooked and cooled potatoes, bread, corn flakes, food products with prolonged and/or repeated moist heat treatment
RS4	Selected chemically-modified resistant starches and industrially processed food ingredients	As a result of chemical modification, can resist hydrolysis	Less susceptible to digestibility <i>in vitro</i>	Some fibre: drinks, foods in which modified starches have been used (certain breads and cakes)

Tableau 10- Les différents types d'amidons résistants (Lunn & Buttriss, 2007).

### 3.1 – L'amidon résistant type R1

C'est un amidon physiquement inaccessible, car ce dernier est piégé dans tout ou partie du grain. L'amidon résistant de type 1 est donc un amidon inaccessible physiquement à la digestion en raison de la présence de parois cellulaires intactes dans le grain, graines ou tubes (Hernández, Emaldi, & Tovar, 2008). C'est un amidon stable thermiquement dans la plupart des opérations de cuisson, ce qui permet son utilisation comme ingrédient dans la plupart des produits alimentaires conventionnels (Sajilata, Singhal, & Kulkarni, 2006).

### 3.2 – L'amidon résistant de type R2

C'est un amidon présent naturellement sous forme de grains, dans les végétaux crus ou verts, non gélatinisés.

Pour rappel, l'amidon se compose de deux types : l'amylose, chaîne linéaire de glucoses liés en  $\alpha$ -D (1-4) et l'amylopectine, chaîne ramifiée de glucoses (environ 4000 unités) liés en  $\alpha$ -D (1-6) (Zobel, 1988). Au sein du grain, l'amidon est étroitement replié dans un modèle radial et déshydraté. Cette structure moléculaire compacte limite l'accès par les enzymes digestives, les amylases et contribue à la résistance du grain d'amidon cru, R2. Dans notre alimentation, ce type d'amidon cru est consommé par le biais des bananes.

R2 décrit donc des granules d'amidon natifs qui sont protégés de la digestion par la conformation ou la structure du grain d'amidon.

### 3.3 – L'amidon résistant de type R3

C'est un amidon résistant qui se forme par rétrogradation de l'amylose lorsque des aliments riches en amidon sont cuits puis refroidis. Il est particulièrement intéressant du fait de sa stabilité thermique.

En présence d'excès d'eau et par chauffage, la structure moléculaire des granules d'amidon (RS2) est modifiée. On parle de gélatinisation, laquelle rend les molécules pleinement accessibles aux enzymes digestives. L'amidon s'hydrate typiquement dans des gammes de température allant de 40°C à 120°C relatives à la source d'amidon et au pourcentage d'amylose. Après refroidissement, l'amidon se re-associe selon un processus lent appelé rétrogradation. Durant la rétrogradation, l'amidon peut se ré-associer et former des structures très compactes (doubles hélices) stabilisées par des liaisons hydrogène (Wu, 1978). Le processus de ré-association peut être prolongé par déshydratation. Ces structures sont thermiquement très stables et peuvent seulement être

réhydratées à 80°- 150°C, en fonction de force et de la nature de la déshydratation (Colonna, 1992 ; Morris, 1990).

Dans la formation de l'amidon résistant de type R3, le grain d'amidon est complètement hydraté.

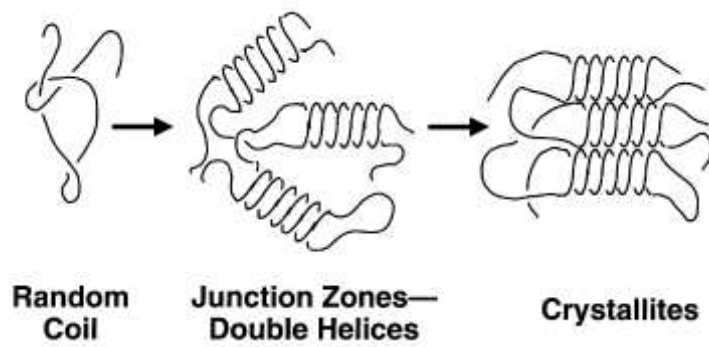


Figure 23 – Cristallisation de l'amidon

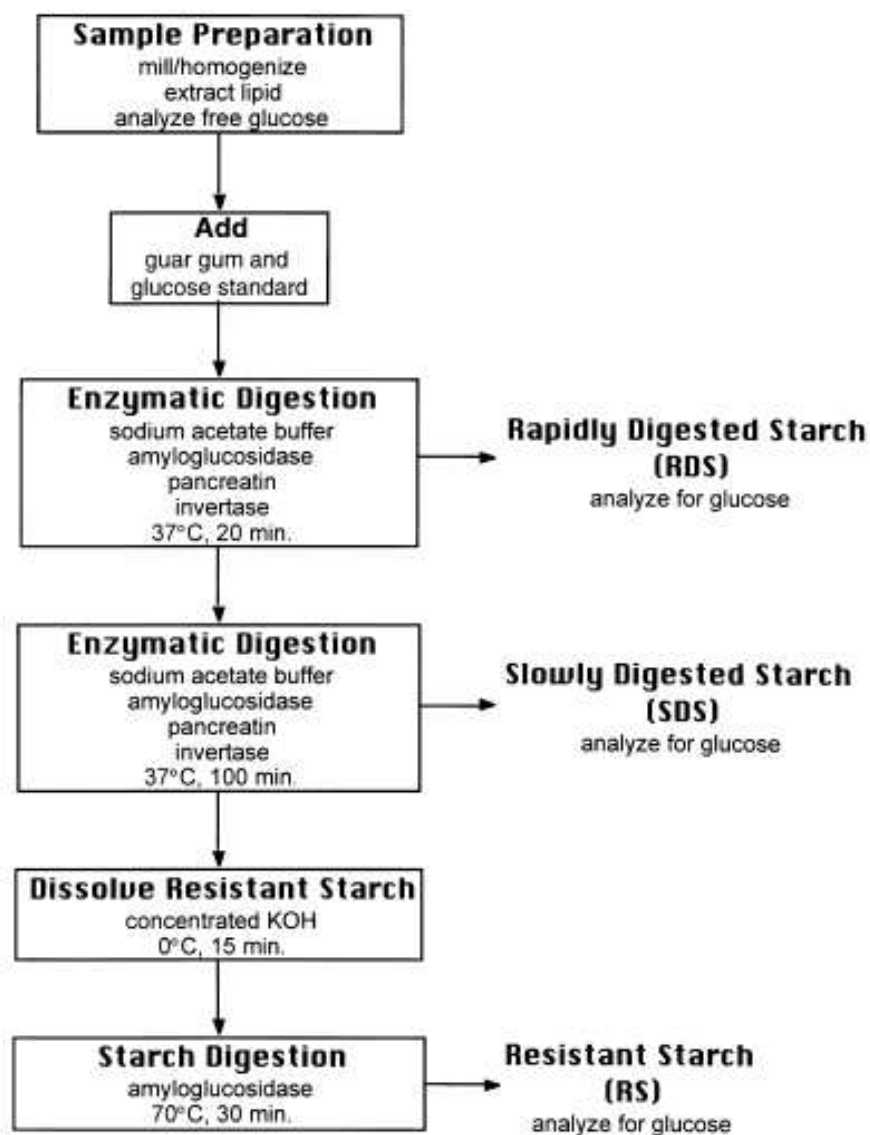


Figure 24 – Méthode Englyst pour évaluation de l’amidon résistant type 3 (Cummings, J. H., & Englyst, H. N. ,1991).

### 3.4 – L’amidon résistant de type R4

C’est un amidon résistant qui est formé par modification chimique pour résister aux enzymes digestifs. Sa structure n’existe pas à l’état naturel. Ce sont par exemple des éthers ou esters d’amidon…)

## **Chapitre 4 – Evaluation des activités biologiques au sein de Musa**

### **1 – Le stress oxydant**

#### **1.1- Les radicaux libres**

On parle de stress oxydant quand le nombre de radicaux libres (alimentation, pollution...) augmentent ou quand le système de protection perd de son efficacité (mutation, inactivation d'enzymes...). Le stress oxydant peut entraîner une suite d'évènements cellulaires et moléculaires ayant pour conséquences des dysfonctionnements de la signalisation cellulaire, des altérations de l'infrastructure cellulaire, des réponses inflammatoires, une modulation de la prolifération et différenciation cellulaire, la mort cellulaire ; le stress oxydant est aujourd'hui reconnu comme un facteur d'inflammation et de mutagenèse. Les lipides notamment les acides gras poly-insaturés sont hautement sensibles aux radicaux, ce qui explique l'effet délétère de ces espèces chimiques hautement réactives sur la structure des membranes cellulaires (Scrive 1990; Poli, 1987). Les radicaux qui dérivent de l'oxygène ont un effet particulièrement destructeur au niveau cellulaire. Ces derniers échappent aux défenses anti-oxydantes de la cellule et modifient les composants cellulaires (acides nucléiques, protéines, lipides) par production d'AGE (Advanced Glycation Endproducts) et d'ALE (Advanced Lipoxidation Endproducts). Le stress cellulaire engendré conduit à un dysfonctionnement catalytique de l'ensemble de la cellule pouvant provoquer la mort cellulaire (Wolfe, 1994). Les radicaux peuvent également agir au niveau de l'ADN du noyau, notamment au niveau des bases azotées qui le constituent (Goetz, 2008).

Parmi les effets attribués aux radicaux, on peut citer la dénaturation des acides aminés qui peut entraîner la diminution d'expression, le dysfonctionnement ou l'inactivation d'enzymes et de molécules métaboliques (Bousquet, 1992).

#### **1.2 - Les systèmes de défense contre l'oxydation**

##### **1.2.1 – Les antioxydants liposolubles**

Ce sont principalement des caroténoïdes et des tocophérols. On les retrouve au niveau des membranes cellulaires et des lipoprotéines plasmatiques circulantes. Leur structure chimique leur permet de réagir directement avec les radicaux libres et d'inhiber la peroxidation lipidique.

La vitamine E est le principal antioxydant des membranes cellulaires. Elle désigne sous un terme générique l'ensemble des tocophérols et tocotriénols. Elle est constituée d'un noyau 6-chromanol sur lequel est fixée une chaîne phytyle entièrement saturée.

Les tocophérols  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$  détruisent les radicaux peroxy ( $\text{ROO}\cdot$ ) et alkoxy ( $\text{RO}\cdot$ ). Grâce à leur hydroxyle phénolique en formant des hydroperoxydes lipidiques et le radical tocophéryle.

Les caroténoïdes ne sont synthétisés que par les végétaux et ont des capacités antioxydantes similaires à celles des tocophérols. Ils forment une grande famille de polyènes conjugués pigmentaires. Ces molécules sont constituées de 40 atomes de carbone formés de 8 unités isoprène à des extrémités pouvant être cycliques. Le phytoène, molécule linéaire de 40 atomes de carbone et est précurseur des carotènes. Il subit des dé-saturations et des cyclisations à ses extrémités pour donner les carotènes. Grâce à leur longue chaîne carbonée riche en doubles liaisons, les caroténoïdes sont d'excellents piègeurs de radicaux peroxy et d'oxygène singulet.

#### 1.2.2 – Les antioxydants hydrosolubles

Les principaux antioxydants hydrosolubles sont la vitamine C et le glutathion (GSH).

La vitamine C est aussi appelée acide ascorbique. Elle peut réagir avec les espèces oxygénées réactives comme  $\text{HO}\cdot$  et  $\text{O}\cdot$  et former le radical semideshydroascorbate. Peu réactif, ce dernier est oxydé en radical deshydroascorbate. Elle peut aussi limiter la peroxydation lipidique en régénérant d'autres antioxydants tels que la vitamine E. Il est à noter qu'à fortes concentrations et en présence de fortes doses de fer, la vitamine C peut devenir pro-oxydante. Certains groupes thiols des acides aminés dans leur forme réduite ainsi que les oligo-éléments (Cu, Zn, Se, Mn, Cr) peuvent aussi piéger les radicaux libres.

#### 1.2.3 – Les antioxydants polyphénoliques

Ils constituent l'une des plus grandes familles dans le règne végétal. Ils incluent tous composés constitués d'un noyau aromatique, contenant un ou plusieurs substituants hydroxyles et incluant différents groupes fonctionnels dérivés (esters, glycosides...). Ils peuvent aller de molécules simples comme les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tanins.

## **2 - L'impact des polyphénols sur la santé, prévention des désordres dégénératifs**

Les polyphénols issus des fruits et légumes de notre alimentation ont reçu un intérêt considérable en raison de leur rôle présumé dans la prévention des divers désordres dégénératifs tels que les cancers et maladies cardiovasculaires. Ce rôle présumé est basé sur un grand nombre d'études sur animaux, d'études cliniques et épidémiologiques. Ces effets sont renforcés par l'identification de possibles mécanismes d'action. Certains de ces mécanismes étant génériques et d'autres plus spécifiques à certains polyphénols en particulier.

Tous les polyphénols sont des agents réducteurs et en tant que tels, ils neutralisent les radicaux libres, participent à la régénération des autres antioxydants tels que la vitamine E et protègent les constituants cellulaires de l'oxydation. Leur structure chimique influence leur potentiel Redox. Les polyphénols ayant deux groupes hydroxyle voisins sur un résidu aromatique sont de meilleurs piègeurs de radicaux libres que les polyphénols avec un seul groupement hydroxyle par résidu aromatique (Scalbert, 2002) ; Jovanovic, 1998). Cependant l'amplitude de ces différences est beaucoup plus faible que celles concernant l'absorption intestinale. Il est indispensable d'évaluer la biodisponibilité des différents polyphénols pour expliquer leurs effets santé respectifs.

Une preuve indirecte de l'absorption à travers la barrière intestinale est l'augmentation de la capacité antioxydante dans le plasma après consommation d'aliments riches en polyphénols (Furhman, 1995 ; Maxwell, 1994 ; Serafini, 1998).

L'analyse de l'urine, après ingestion de quantités données de certains polyphénols permet de comparer la biodisponibilité des différentes molécules présentes dans l'alimentation. Les quelques études humaines montrent que les quantités de polyphénols retrouvées intactes dans l'urine varient d'un composé polyphénolique à un autre. Parmi les flavonoides, la biodisponibilité est particulièrement faible pour la quercétine et la rutine mais beaucoup plus élevée pour les catéchines, flavanones ou anthocyanidines (Scalbert et al, 2002).

La structure des polyphénols a un impact majeur sur l'absorption intestinale. Les paramètres structuraux les plus largement incriminés restent la masse moléculaire, la glycosylation et l'estérification.



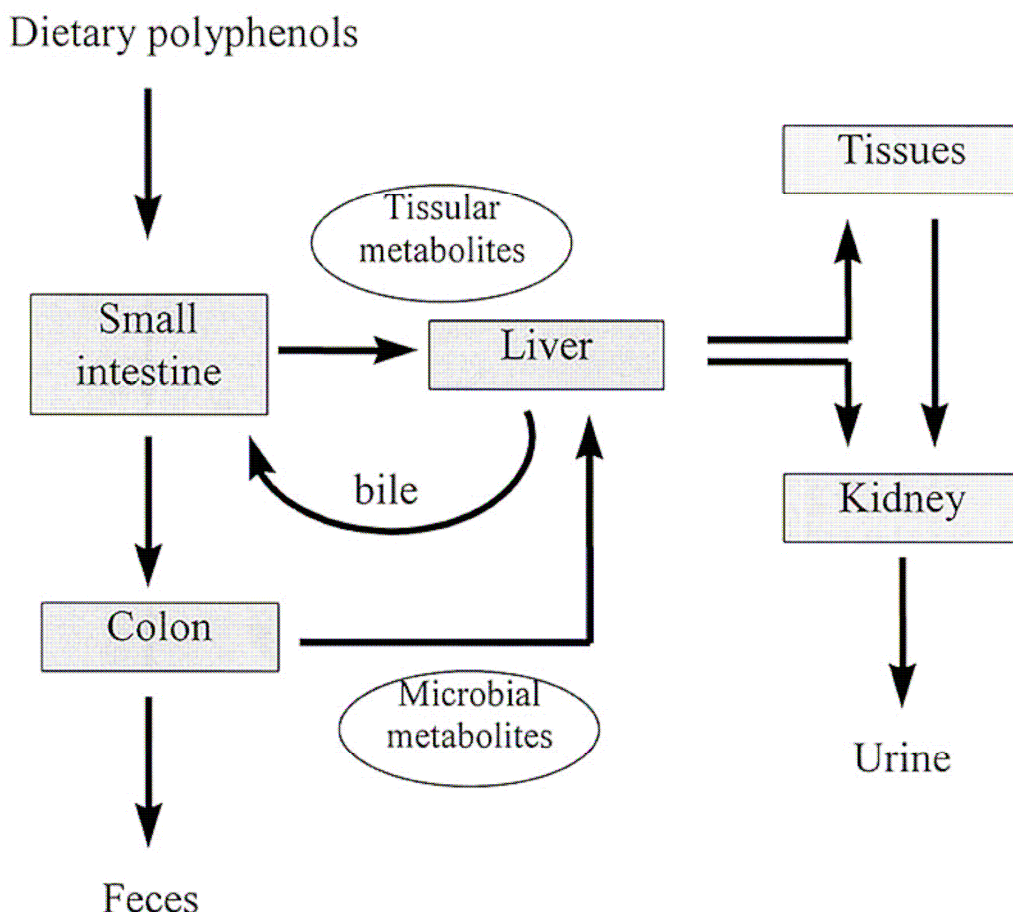


Figure 25 – Routes pour les polyphénols et leurs métabolites, chez l’homme

## 2.1 - Le métabolisme des polyphénols

Les polyphénols sont métabolisés soit dans les tissus, une fois qu’ils sont absorbés à travers la barrière intestinale, ou soit par la microflore du colon pour les fractions non absorbées et les fractions re-excrétées dans la bile. Tous les polyphénols sont conjugués en O-glucuronide, sulfate d’esters et O-methyl ether. Cette conjugaison apparaît premièrement au niveau de la barrière intestinale. Ces composés conjugués atteignent ensuite le foie où ils sont métabolisés.

## 2.2 - Les applications Santé des polyphénols

La plupart des études sur les propriétés biologiques des polyphénols ont été menées sur les flavonoïdes dans leur forme native. Il a été démontré que les flavonoïdes interagissent avec les récepteurs afin d’inhiber les enzymes et induire des réponses diverses dans des cultures cellulaires. Cependant, certains des effets biologiques observés en expérimentation animale ou études cliniques

devraient être expliqués par leurs métabolites microbiens. Les propriétés biologiques des métabolites microbiens des polyphénols ont rarement été explorées. En raison de leur nature phénolique, ils devraient contribuer à une protection contre le stress oxydant.

Par ailleurs, certains bénéfices santé des polyphénols ne devraient pas requérir leur absorption à travers la barrière intestinale. La plus forte concentration locale de polyphénols a été trouvée dans la lumière intestinale (Santos-Buelga, 2000). Ils devraient avoir un impact direct sur la muqueuse gastrique et la protéger du stress oxydant ou de l'action carcinogène. Les proanthocyanidines ne sont par exemple pas absorbés à travers la barrière intestinale (Scalbert, 2002). Les polyphénols interagissent aussi avec les nutriments dans la lumière intestinale. Ils forment des complexes stables sans ions ferriques et limitent l'absorption du fer dans l'intestin (Hurrell, 1999).

### **3 – Prévention de l'ulcère gastroduodéal**

L'ulcère gastroduodéal est une rupture de l'équilibre entre les agents agressifs et les facteurs de défense au niveau de la muqueuse gastroduodénale. C'est une maladie fréquente. Son incidence annuelle est de 1 pour 1000 habitants âgés de plus de 15 ans. L'ulcère duodéal est deux à trois fois plus fréquent que l'ulcère gastrique.

Des études menées avec la banane plantain (*Musa sapientum* var. *paradisiaca*) ont indiqué une activité protectrice et réparatrice dans les cas d'ulcères, à travers une action sur les facteurs de défense de la muqueuse (Sanyal, 1964 ; 1965). Le stress oxydant et la colonisation par *Helicobacter pylori* sont considérés être les principaux facteurs responsables de la pathogenèse des ulcères gastriques.

#### **3.1 - Cytoprotection avec la leucocyanidine**

##### **3.1.1 - Rôle des flavonoides**

Les propriétés antiulcéreuses de la banane ont été confirmées par des travaux effectués par Best en 1984 (Best, 1984). Ceux-ci indiquèrent, lors de travaux préliminaires, que l'agent anti-ulcéreux actif chez la banane était polaire, extractible avec de l'eau chaude ou de l'alcool, mais que l'activité anti-ulcérogène était perdue après chauffage à plus de 50°C ; Les métabolites secondaires polaires les plus communs, présent dans la pulpe de banane, sont connus pour appartenir au groupe des

flavonoïdes (Simmonds, 1954 ; Beil,1995) : le principal composant de ce groupe est le flavan-3,4-diol, aussi connu sous le nom de leucoanthocyanidine. Il s'agit d'un monomère constitutif des tannins.

Les flavonoides sont connus pour leurs activités anti-inflammatoire, antinéoplasique et hépatoprotectrice. Plus récemment, Beil a démontré que les flavonoïdes réduisent la sécrétion acide des cellules gastriques pariétales. (Lewis, 1999)

D'après ces travaux, la leucocyanidine montre donc un rôle protecteur significatif, mais incomplet. Donc, la banane pour agir doit influence la sécrétion de mucus, stimuler la croissance des cellules mucosales ou agir par d'autres mécanismes restant à élucider.

Goel and al (1986) ont également démontré que la poudre de pulpe de banane avait un effet protecteur significatif en contribuant: à l'augmentation de l'épaisseur de la muqueuse ainsi qu'à l'accroissement de l'incorporation de la thymidine [ <sup>3</sup>H] au sein de l'ADN mucosal. La poudre de banane devrait donc renforcer la résistance de la muqueuse aux agents ulcérogènes (phenylbutazone, aspirine) mais aussi promouvoir la cicatrisation en induisant une prolifération cellulaire. Les analyses histologiques de la muqueuse gastrique glandulaire ont été réalisées afin de déterminer les degrés de sévérité des ulcères et les épaisseurs de muqueuse.

Les extraits de pulpe de bananes plantains obtenus après extraction au méthanol renforcent les défenses mucosales en augmentant la sécrétion de mucine, la teneur en glycoprotéines mucosales et la prolifération cellulaire (Goel, 2001).

Par ailleurs, la littérature évoque le rôle de non-inhibition des extraits méthanoliques de pulpes de bananes plantain dans la colonisation de *Helicobacter pylori*. Les travaux ont été réalisés sur plaques de 96 puits et *H. pylori* a ainsi été incubé en milieu liquide bien que la souche bactérienne *H. pylori* utilisée soit une souche qui pousse sur milieu solide enrichi en sang de cheval (Goel, 2001).

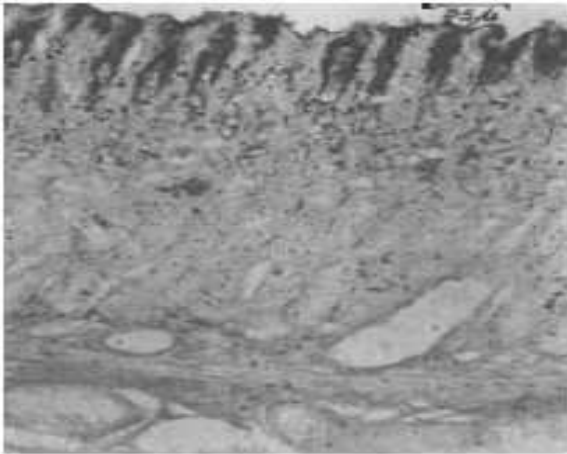


Figure 26 – La couche laminaire de l'estomac des rats a été colorée avec de l'éosine haemotoxyline et du bleu alcian. A noter la couleur bleu alcian sur la surface de l'épithélium et sur la portion superficielle de la muqueuse (apical) (X162).



Figure 27- Muqueuse des rats traités à l'aspirine. A noter l'insuffisance des cellules apicales à se colorer en bleu alcian (X162)

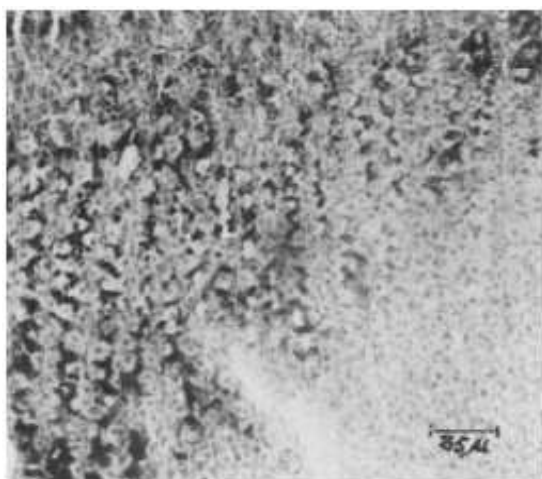


Figure 28 – Micrographie montrant l'estomac des rats traités au DRBP. La coloration Bleu alcian est plus intense et s'étend aux couches cellulaires épithéliales plus profondes des cryptes. L'activité est aussi observée dans certaines zones des glandes plus profondes (X162).

### 3.2 – Cytoprotection par les sitoindosides

Les sitoindosides sont des acylsterylglucosides. Leur action bénéfique a été démontrée dans les cas d'ulcères induits par l'aspirine chez des rats ou des patients atteints d'ulcères gastriques (Ghoshal, 1984 ; Ghosal, 1985). Chattopadhyay et al, 1987 ont étudié plus précisément les mécanismes d'action des sitoindosides extraits de bananes plantains. Les sitoindosides jouent un rôle anti-ulcérogène grâce à leur action d'activation des macrophages péritonéaux.

Les sitoindosides IV ou sitosterol 3- [2''- O- palmityl-myo-indosyl- (1 → 6')-β-D-glucopyranoside], extrait de bananes plantains (*Musa paradisiaca*), aux doses de 100 à 400 µg/souris, sur une période de 3 à 7 jours produisent une mobilisation et activation significative des macrophages péritonéaux. Les macrophages péritonéaux seraient impliqués dans le nettoyage des tissus endommagés en augmentant la phagocytose et la sécrétion de substances biologiques actives qui en stimulant la prolifération et la synthèse de collagène par les fibroblastes guériraient les tissus. L'augmentation du ratio protéine/ADN suggère une activité cellulaire accrue.

### 3.3 – Cytoprotection de la muqueuse gastrique avec l'amidon résistant

La pulpe de banane est riche en amidon résistant et non résistant. L'amidon résistant a été démontré prévenir les infections pathogènes ou diarrhée et être bénéfique dans des pathologies telles que l'insulino résistance, le cancer du colon, les désordres hépatiques ou rénaux chroniques (Sajilata et al., 2006). En effet, la prise d'amidon résistant de type 2 (RS2) sur une longue durée améliore

l'intégrité de la muqueuse du colon. Elle réduit aussi l'apoptose intestinale et la réactivité immunitaire. L'amidon résistant est effectivement fermenté par les bactéries du colon en de courtes chaînes d'acides gras. Chez l'homme, la fermentation de l'amidon résistant dans le gros intestin semble augmenter la production de butyrate. Le butyrate est reconnu comme étant le carburant préféré des cellules du colon. Il est également responsable de la modulation de certaines fonctions telles que la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules du colon (Nofrarias, 2007).

## **Chapitre 5 – Méthodes d'extraction des composés actifs**

### **1 – Extraction**

L'isolement des composés phénoliques des plantes par extraction est un processus généralement très difficile en raison de la variété de composés qu'il est possible de trouver dans les échantillons naturels. L'obtention de rendements élevés est parfois compliquée et par conséquent des soins doivent être pris pendant la manipulation afin d'éviter les modifications chimiques qui peuvent survenir lors du processus d'extraction en raison de l'activité enzymatique élevée des échantillons naturels et de l'utilisation de fortes températures. L'oxydation et l'isomérisation durant l'extraction sont un souci constant (Antolovich, 2000).

C'est ainsi qu'afin de protéger les composés polyphénoliques contre les processus de détérioration pendant l'extraction, l'ajout d'antioxydants et le travail dans des conditions d'atmosphère inerte ont été des solutions proposées. La fidélité entre le profil polyphénolique de départ et celui de l'extrait obtenu est un paramètre important qui doit être pris en considération. Par conséquent, dans le cadre de ces travaux, des solutions reposant sur la technologie des fluides supercritiques ou de la macération ont été étudiées afin de déterminer l'impact des procédés sur les molécules. Les conditions utilisées doivent être douces afin d'éviter l'oxydation, la dégradation thermique et d'autres changements chimiques et biochimiques dans les échantillons naturels.

Parmi les techniques existantes pour l'extraction des polyphénols, il y a la macération. C'est une méthode traditionnelle très utilisée (Spigno et De Faveri, 2007 ; Budic-Letoc et al, 2005). Cette méthode, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants, est relativement peu coûteuse car non consommatrice d'énergie. De plus, elle se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules polyphénoliques qui sont sensibles aux changements de température.

### **2 – Technologie innovante d'extraction, le FLUIDE SUPERCRITIQUE**

#### **2.1- Historique**

En 1680, Denis Papin démontre expérimentalement que le point d'ébullition de l'eau peut disparaître en augmentant la pression. Le baron Cagniard de La Tour (1822) fut le premier à

identifier ce nouvel état de la matière. Il l'appela « l'état particulier ». Ce n'est qu'en 1869 que le terme « point critique » et que l'état supercritique furent introduits et décrits par Thomas Andrews suite à ses travaux sur le dioxyde de carbone. Van der Waals (1873) développa par la suite une équation d'état pour les gaz non-idéaux.

Hannay et Hogarth (1879) démontrèrent que certains solides tels que la chlorophylle étaient solubles dans de l'alcool supercritique, suite à l'observation qu'ils firent de fines particules de solide produites en diminuant rapidement la pression d'une solution supercritique. Ils furent ainsi initiateurs du procédé RESS (Rapid Expansion of a Supercritical Solution) qui est utilisé aujourd'hui en précipitation.

Zosel (1978) fut parmi les premiers à développer l'extraction de produits naturels au CO<sub>2</sub> supercritique. La première application fut l'extraction de la caféine des grains de café. Le CO<sub>2</sub> bénéficie de nos jours d'un fort engouement pour des applications propres à l'extraction. Après une description des propriétés des fluides supercritiques (FSC), nous nous intéresserons plus en détails à son utilisation dans ce domaine particulier.

## 2.2- Propriétés des fluides supercritiques (FSC)

On parle d'état supercritique quand un composé, un mélange ou un élément, se trouve à la fois au-dessus de sa pression critique ( $P_c$ ) et de sa température critique ( $T_c$ ) mais au-dessous de la pression de solidification. Trois variables qui sont la pression ( $P$ ), la température ( $T$ ) et le volume ( $V$ ) décrivent l'état supercritique, selon l'équation d'état suivante  $(P, V, T) = 0$ . A chaque point de cette surface correspond un état du système. Les trois états, gaz (G), liquide (L), et solide (S) sont séparés par des domaines de coexistence solide-gaz, liquide-gaz et solide-liquide (S-G, L-G, et S-L). La droite (a-b-c) correspond à la coexistence des trois états. Il est possible de passer de l'état liquide à l'état gazeux de façon continue, c'est-à-dire sans traverser le domaine L-G, mais en contournant le point critique (point C). Au-delà de ce point, défini par une pression, une température et une masse volumique critique ( $P_c$ ,  $T_c$ ,  $\rho_c$ ) se situe le domaine supercritique (SC).

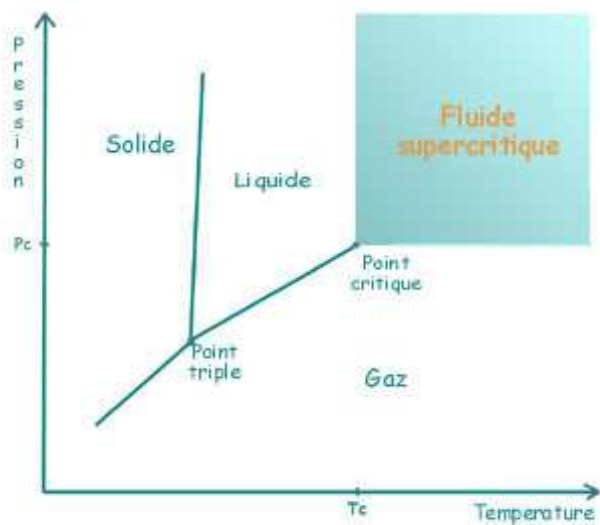
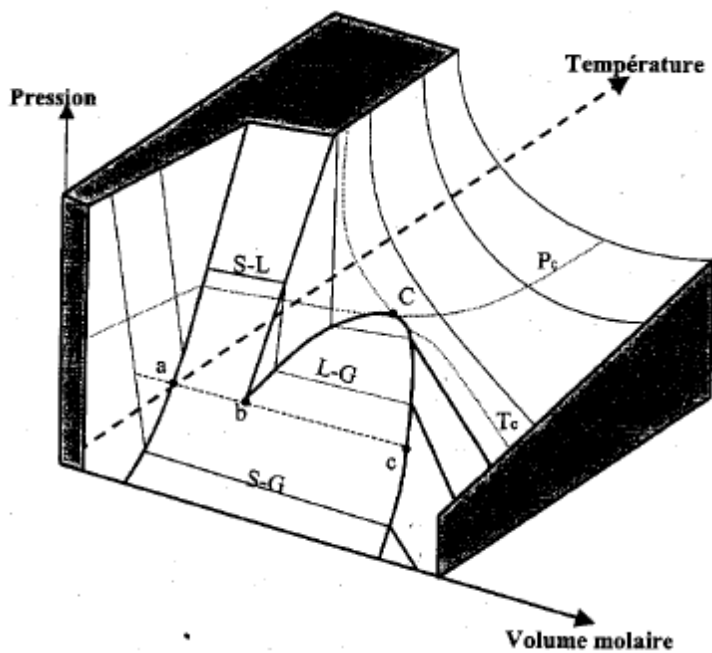
Au point critique, on observe 3 choses :

- la masse volumique du liquide et du gaz sont identiques ce qui ne permet plus de distinguer la phase liquide de la phase vapeur.
- L'interface L-G n'existe plus.
- le fluide pur devient instable thermiquement et mécaniquement.

En effet, on a :

$$(\partial P / \partial V)_T = 0 \text{ et } (\partial^2 P / \partial^2 V)_T = 0$$





Figures 29 – Diagrammes de phases (P, V, T) d'un corps pur

Les propriétés des fluides supercritiques sont souvent décrites comme étant intermédiaires entre celles des gaz et celles des liquides. Cette définition est exacte pour les propriétés de transport, comme le montrent les valeurs des ordres de grandeurs de certaines de ces propriétés reportées dans le tableau.

Grandeur	Gaz	FSC (T = T <sub>c</sub> , P = 2 P <sub>c</sub> )	Liquide
Masse volumique (kg/m <sup>3</sup> )	1	700	1000
Viscosité dynamique (kg/m/s)	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>
Coefficient de diffusion (m <sup>2</sup> /s)	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>

Dans la zone critique, la densité est, entre autres, très sensible aux changements de température et de pression. Ces paramètres physiques des fluides peuvent, en effet, varier considérablement mais les changements de phase entre l'état liquide et l'état vapeur sont continus. Ces paramètres physiques des fluides peuvent effectivement être ajustés en jouant sur la température et la pression. La masse volumique du CO<sub>2</sub> est équivalente à 470 kg/m<sup>3</sup> dans la zone critique. Dans la zone supercritique, sa valeur est, par contre, proche de la valeur de la masse volumique du CO<sub>2</sub> à l'état liquide. C'est en ce sens que beaucoup de composés sont aisément solubilisés dans les FSC compte tenu de leur densité proche de celle des liquides. La solubilité de certains matériaux dans les FSC est très supérieure à la « solubilité » prédite dans les gaz idéaux. Cette densité confère donc aux FSC un bon pouvoir solvant qui peut être manipulé en modifiant la pression et la température. Cette propriété constitue un intérêt majeur de l'utilisation des FSC, notamment en extraction ou comme solvant de réaction chimique. En effet le pouvoir solvant est d'abord exploité lors de l'extraction ou de la réaction pour solubiliser les produits à extraire ou les réactifs. Il est ensuite diminué de façon à les récupérer. Cette variation est généralement utilisée grâce à une cascade de détentes.

Il faut retenir que la solubilité des solutés augmente rapidement dans la zone critique du solvant alors qu'à haute pression, on observe une augmentation de la solubilité des solutés qui est moindre avec la pression. En fait, il faudrait aussi tenir compte de la température sur la tension de vapeur du soluté ainsi que de la densité du solvant supercritique dans les phénomènes de solubilité. En effet, une augmentation de température aura pour conséquences de provoquer, d'un côté, une augmentation de la tension de vapeur du soluté soit l'augmentation de sa volatilité et la diminution de la densité du solvant et, d'autre part, de diminuer les interactions solvant-soluté.

Alors que la densité varie considérablement à basse pression avec une diminution de la solubilité quand la température augmente, à haute pression (supérieure à la pression critique du solvant), la densité varie peu avec la température.. On parle de solubilité rétrograde ou zone de pression où les isothermes de solubilités se croisent.

La dissolution d'un solide s'effectuera plus rapidement dans un FSC dans la mesure où la viscosité d'un fluide supercritique est plus faible que celle du liquide, et que le coefficient de diffusion, plus important que celui du liquide, rendent la vitesse de diffusion des espèces dans un fluide

supercritique plus rapide que dans un liquide. Un fluide supercritique sera plus efficace pour pénétrer une structure solide micro-poreuse. Néanmoins, il existe des limitations de transfert de matière.

De manière générale, le CO<sub>2</sub> est un bon solvant. Cependant son caractère apolaire le rend peu performant pour solubiliser de nombreux composés polaires. Afin d'optimiser son efficacité et la solubilisation de composés polaires, l'ajout d'un composé faiblement polaire, de type éthanol ou acétone peut parfois être réalisé. Le but étant donc de polariser le CO<sub>2</sub> ou former des interactions de type liaison hydrogène avec le soluté (Saduig et al 1998). L'inconvénient à l'ajout d'un co-solvant peut éventuellement représenter la perte de l'utilisation exclusive d'un composé non toxique tel que le CO<sub>2</sub>.

Toutes les propriétés des fluides supercritiques ne sont pas intermédiaires entre celles des gaz et celle des liquides. La compressibilité et la capacité calorifique sont par exemple beaucoup plus importantes près du point critique que pour les gaz ou les liquides.

Les fluides supercritiques présentent un certain nombre d'avantages par rapport aux solvants liquides. Le pouvoir solvant ajustable et les excellentes propriétés de transport qui ont été décrites sont celles qui les différencient nettement des solvants classiques.

## 2.3 -Les fluides supercritiques couramment utilisés

### 2.3.1 Le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>)

Le dioxyde de carbone est le fluide d'extraction le plus largement utilisé parce qu'il est inerte, non toxique, disponible à très haute pureté et sa température et pression critiques sont basses (31,1 °C ; 73,8 bars). Cependant, le dioxyde de carbone possède un moment dipolaire comparable à celui de certains solvants comme le pentane et l'hexane (Bowadt et al, 1995) ; Philips et al, 1989 ; Deye et al (1990)). L'oxyde nitreux (N<sub>2</sub>O) dont le moment polaire permanent peu élevé est de 0,17D a été la première alternative (Sauvage et al, 1993). Cependant, il est moins utilisé en raison des risques d'oxydation et d'explosion lorsqu'on est en présence de matières organiques.

### 2.3.2 L'eau

L'eau peut être utilisée comme fluide d'extraction en phase liquide aux alentours de son point critique et en phase gazeuse. La température et la pression critique de l'eau sont respectivement 374,1°C et 218,3 bar. L'eau supercritique est très corrosive en présence d'oxygène.

### 2.3.3 Le méthanol

Le méthanol est un solvant ordinaire avec un moment polaire élevé à 1,7 D. Sa température critique élevée de 240°C limite généralement son usage comme fluide supercritique.

#### 2.3.4 Les hydrocarbures

Les points critiques des hydrocarbures linéaires augmentent avec l'augmentation de la masse molaire. Les hydrocarbures insaturés ou ramifiés présentent des coordonnées critiques plus faibles que les hydrocarbures saturés.

FSC	T <sub>c</sub> (K)	P <sub>c</sub> (bar)	ρ <sub>c</sub> (g.cm <sup>-3</sup> )	M (g.mol <sup>-1</sup> )	Coût <sup>a</sup> (\$.kg <sup>-1</sup> )
CO <sub>2</sub>	304,1	73,8	0,466	44,01	3
HCl	324,6	82,6	0,42	36,46	20
HBr	363,0	85,5	n.d.	80,91	50
Eau	647,3	220,6	0,322	18,02	n.d.
NH <sub>3</sub>	405,6	113,2	0,235	17,03	3
N <sub>2</sub> O	309,6	72,5	0,453	44,01	50
Kr	209,4	54,9	0,912	83,8	3000
SF <sub>6</sub>	318,7	37,6	0,737	146,1	50
Xe	289,8	58,3	1,099	131,3	4000
CHF <sub>3</sub>	299,1	48,2	0,525	70,01	125
CH <sub>4</sub>	190,6	46,0	0,163	16,04	80
CH <sub>4</sub> O	512,7	80,8	0,273	32,04	18
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	282,4	50,4	0,214	28,05	16
C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	305,4	48,7	0,207	30,07	100
C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	400,1	54,0	0,242	46,07	15
C <sub>3</sub> H <sub>6</sub>	365,0	46,0	0,228	42,08	9
C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>	369,9	42,5	0,220	44,10	10
n-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>	425,2	38,0	0,228	58,12	15
i-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>	407,9	36,4	0,224	58,12	15
n-C <sub>5</sub> H <sub>12</sub>	469,8	33,7	0,232	72,15	30
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	562,7	49,2	0,300	78,11	30
C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	507,7	30,3	0,234	86,18	300

<sup>a</sup> Prix approximatifs pratiqués par la plupart des distributeurs début 1998 pour des composés purs à 99,9%

n.d. : non disponible

Tableau 11- Caractéristiques des fluides supercritiques

#### 2.4 - Applications des fluides supercritiques

Les principales applications industrielles des fluides supercritiques se sont principalement développées dans le domaine de l'extraction et notamment de l'extraction de produits naturels pour l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique.

Aux Etats-Unis, les opérations utilisant les FSC concernent la décaféination du café et l'extraction des fractions  $\alpha$ - acides du houblon. En Europe, ces opérations utilisant les FSC concernent l'extraction de produits naturels pour l'industrie agroalimentaire et cosmétique, l'extraction d'arômes ou épices. Des unités de petites tailles développent des applications plus marginales telles que la délipidation des os utilisés pour les greffes (Fages et al, 1994).

Le CO<sub>2</sub> supercritique est également utilisé aux Etats-Unis dans l'industrie des peintures (réaction et atomisation dans le CO<sub>2</sub> supercritique). Quelques réactions en milieu supercritique sont réalisées sur le plan industriel : hydrogénation, hydratation du butène, polylérisation de l'éthylène. Il existe également quelques unités d'oxydation par l'eau supercritique pour le traitement des déchets toxiques (Perrut, 2000).

Une autre application est la production de poudres aux caractéristiques exceptionnelles, conséquences des propriétés de transport très particulières des FSC.

L'extraction et le fractionnement par les fluides supercritiques reste encore un des domaines les plus étudiés. Une des principales difficultés dans la compréhension et la mise en œuvre de procédés utilisant des fluides supercritiques est liée à la prédiction du comportement thermodynamique des mélanges.

## 2.5 – Extraction de matières végétales par CO<sub>2</sub> supercritique

### 2.5.1 – Solubilité des produits naturels dans le CO<sub>2</sub> supercritique

Les composés organiques oxygénés de faible masse molaire tels que les cétones, les esters, les alcools, les éthers et les aldéhydes sont très solubles. La plupart des composés organiques non polaires de faible masse molaire, tels que les alcanes, les terpènes et autres hydrocarbures sont assez solubles. Les composés organiques polaires tels que les acides carboxyliques sont solubles s'ils ont des masses molaires très basses. Dans une série d'homologues, la solubilité diminue avec l'augmentation de la masse molaire. La présence du groupe polaire tel qu'un carboxyle ou un groupe nitré, réduit habituellement la solubilité d'un composé. La chlorophylle, les acides de fruit, les sucres, les acides aminés et la plupart des sels inorganiques sont très légèrement solubles. Les acides gras et leurs triglycérides associés ont une faible solubilité. Les alcaloïdes sont souvent insolubles dans le CO<sub>2</sub> liquide bien qu'ils soient solubles dans le CO<sub>2</sub> supercritique. La solubilité de l'eau dans le CO<sub>2</sub> supercritique, à température ambiante, se situe autour de 0,1% en masse (King et al, 1993).

Miscible/Très soluble	Faiblement soluble	Insoluble
Composés organiques non polaires et légèrement polaires (masse moléculaire < 250) Hydrocarbures aliphatiques Alcools, Aldéhydes Cétones Esters Monoterpènes Sesquiterpènes	Composés de hautes masses moléculaires (hydrocarbures aliphatiques) Alcools, aldéhydes, cétones, Esters Terpènes et sesquiterpènes substitués Acides carboxyliques Composés relativement polaires avec des groupes aminés	Sucres, protéines, polyphénols, tannins, quelques cires, sels inorganiques, chlorophylle Caroténoïdes, acides citrique et malique Composé de haut poids moléculaire

## 2.5.2 - Facteurs affectant le taux d'extraction

### 2.5.2.1 Addition de co-solvant

Quand la pression d'extraction nécessaire se situe largement au-dessus du poids critique du FSC ou si la polarité du fluide n'est pas convenable pour extraire le soluté, on peut envisager l'utilisation d'un co-solvant. En effet, si un co-solvant est utilisé la pression opératoire peut généralement être réduite.

Dans la littérature scientifique, les produits organiques oxygénés tels que l'acétone, l'éthanol et d'autres alcools aromatiques, le chlorobenzène sont des co-solvants efficaces. Le critère utilisé pour sélectionner un co-solvant est son interaction avec le soluté. Ceci est très important dans l'étape d'extraction mais aussi pendant l'étape de régénération. Un co-solvant efficace doit satisfaire à trois critères :

la solubilité du soluté dans le FSC doit être augmentée

la dépendance de la solubilité à la pression et à la température doit être amplifiée

l'extraction en présence de co-solvant doit être plus efficace (Recassens et al, 1997)

### 2.5.2.2 Pré-traitement de la matière végétale

L'efficacité d'extraction dépend fortement du pré-traitement de la matière végétale (Gaspar et al, 2000). La réduction de taille des particules augmente le taux d'extraction. Une autre méthode utilisée pour le pré-traitement est d'immerger la matière végétale dans le CO<sub>2</sub> pendant un moment avant décompression puis remise en pression pour l'extraction.

### 2.5.2.3 Direction de l'écoulement du fluide dans le lit fixe d'extraction

L'extraction est moins efficace quand le courant de solvant supercritique monte à travers le lit (configuration « upflow »). Ce phénomène n'est plus observé quand la vitesse interstitielle du solvant et la taille des particules sont faibles. La vitesse d'extraction est plus élevée si l'extraction est en « dowflow » parce que la solubilité augmente avec la masse volumique (Sovova et al, 1994).

## 2.6- Avantages à l'utilisation de CO<sub>2</sub> supercritique

Les avantages de l'utilisation du CO<sub>2</sub> supercritique sont généralement liés aux aspects de sécurité, de santé et d'environnement. En effet, dans le domaine alimentaire, la présence de résidus de solvant organique est particulièrement néfaste. L'extraction à l'aide de fluides supercritiques permet d'obtenir des extraits exempts de solvant, sans dénaturer les produits naturels. Les avantages du CO<sub>2</sub> supercritique en particulier sont les suivants :

il est moins cher

il possède un point critique relativement, bas, notamment sa température critique, ce qui permet la réalisation d'opérations d'extraction à basse température, et ainsi de diminuer le risque de dommages sur les composés thermolabiles.

Il est ininflammable et chimiquement inerte

Il permet une bonne solubilisation des solutés non polaires et légèrement polaires

Il est présent à l'état naturel et en grande quantité sur la planète.

Sa récupération est facilitée par son état gazeux dans les conditions ambiantes

Son pouvoir solvant peut être contrôlé par le choix d'une combinaison pression –température appropriée

Des composés plus volatils qui disparaissent dans les opérations d'hydrodistillation restent présents dans l'extrait supercritique (Martine De La Ossa et al., 1991, Vardag et al.1995). Donc l'extrait obtenu présente la fragrance et le goût de la plante originale.

La pression dans l'extracteur empêche la pénétration de l'oxygène réduisant ainsi les effets d'oxydation.

Le nombre de solvants pouvant être utilisé à l'état supercritique est supérieur à celui des solvants organiques classiques.

Le fluide supercritique a une sélectivité supérieure bien qu'ayant un pouvoir solvant inférieur à celui des solvants organiques dans les conditions proches du point critique (Riedrich et al. 1984, Eggers 1985)

L'extracteur supercritique peut être relié directement à un chromatographe permettant l'analyse en ligne après l'extraction.

### **3 – La flash détente, broyage fin pour extraction des métabolites**

Le procédé d'évaporation flash sous vide dit flash détente est très largement utilisé depuis plusieurs décennies dans diverses industries. On le retrouve dans différentes applications telles que : le dessalement de l'eau de mer, la concentration et la pasteurisation du lait ou le traitement des eaux usées chargées en huiles solubles (eaux de lavages des sols, eaux de machines à laver, liquide de refroidissement et de lubrification des pièces usinées,...). Au cours de ces dernières années, une nouvelle application de ce procédé a vu le jour par le biais de deux scientifiques Réunionnais qui ont traités certains fruits et légumes par évaporation flash, dans le but d'obtenir des jus et des purées ayant des caractéristiques rhéologiques et physico-chimiques différentes des produits traditionnels. Le matériel végétal traité par ce procédé présente une viscosité et une intensité colorante supérieures à celles des produits traditionnels. Dans l'industrie agroalimentaire ce procédé est déjà appliqué pour la production de purées de tomate plus colorantes et plus visqueuses, la concentration de jus de fruits tropicaux (fruit de la passion, goyave et mangue), l'extraction des huiles essentielles d'écorces d'agrumes ou encore au pré-traitement de la vendange juste après la récolte.

#### **3.1 – Fonctionnement**

La chambre de détente et le condenseur sont mis sous vide, ce qui permet d'abaisser la température de saturation dans le système au moyen du dispositif pompe à vide – éjecteur. Une fois que l'on a atteint une pression de 30 millibars environ, on ouvre la vanne, les fruits ainsi chauffés préalablement dans la cuve de chauffage (à une température entre 70 et 90 °C) tombent dans l'étage inférieur de la chambre de détente. Par la différence de pression à laquelle ils sont soumis, les fruits subissent alors une détente brusque accompagnée d'une libération violente de vapeur (prenant de l'énergie au produit et ainsi le refroidissant) avec arrachement de gouttelettes qui augmente la pression de vapeur. La récupération sous forme de condensats des gouttelettes transportées par la vapeur est assurée. La durée des essais est de 20 minutes. L'inconvénient de cette méthode reste le traitement thermique dans la phase d'étuvage. Il présente certes l'avantage de fragiliser les parois cellulaires mais aussi l'inconvénient de dénaturer certaines molécules thermosensibles telles que les leucocyanidines. La flash détente peut être menée sous vide et permet d'éviter les phénomènes d'oxydation. Les polyphénols et en particulier, la dopamine restant très sensible à l'oxydation.



## **PARTIE 2: LES RESULTATS**

# **Chapitre 1 – Les stades physiologiques de récolte des bananes Cavendish FWI et évaluation quantitative des nutrifonctionnalités**

## **1 – L'échantillonnage et le mûrissement**

Les bananes Cavendish proviennent de la parcelle d'un agriculteur, localisée à Capesterre Belle-eau, en Guadeloupe. Elles ont été récoltées à trois stades physiologiques de maturités différentes, correspondant au cumul des températures enregistrées au-delà de 14°C.

- Vert immature 400 (bananes 400 degrés jour)
- Jeune Vert 600 (bananes 600 degrés jour)
- Maturité commerciale 900 (bananes 900 degrés jour)

Ces stades de maturité correspondent approximativement à 90, 60 et 40 jours après la floraison pour les bananes 900, 600 et 400 et sont fonction de l'ensoleillement. Ils varient donc en fonction des saisons.

Afin d'avoir des lots homogènes, pour chaque stade physiologique, les fruits ont été prélevés sur 5 régimes et au niveau de la main médiane (main 3). Les doigts internes ont préférentiellement été choisis.

Tous les fruits récoltés ont été lavés dans un bain de Baycor 300B, fongicide utilisé à la concentration de 7 ppm et durant 2 min. Par ce lavage, il s'agit d'éviter l'anthracnose de quiescence et de blessure, la pourriture de couronne et ainsi de pouvoir mener notre cinétique de maturation sur 9 à 10 jours.

Les fruits ont ensuite été disposés dans quatre caissons de 35 L et de la façon suivante:

- Caisson 1 et 2 : on a par caisson (5 bananes 900 x 3 lots) + (5 bananes 600 x 3 lots) + (5 bananes 400 x 3 lots), prélevés des régimes 1, 2, 3, 4, 5 et voire 6 (uniquement pour les bananes 900).
- Caisson 3 et 4 : (5 bananes 900 x 3 lots) + (5 bananes 600 x 3 lots) + (5 bananes 400 x 3 lots) par caisson et prélevés des régimes 1,2, 3, 4, 5 et voire 6 (uniquement pour les bananes 900).

Tous les caissons sont stockés pendant 24 heures à 20°C pour stabilisation, avant de subir un gazage à l'acétylène. Ils sont donc laissés ouverts.

Les caissons 1 et 2, refermés pour assurer l'étanchéité, reçoivent un gazage à l'acétylène à 10 000 ppm soit 350 ml d'acétylène pour un caisson de 35 L.

Les caissons 3 et 4 reçoivent un gazage à l'acétylène à 1 000 ppm soit 35 ml d'acétylène pour un

caisson de 35 L.

Ces caissons étanches sont stockés à 20°C pendant 24 heures puis au terme des ces 24 heures, ils sont ouverts et les bananes sont sorties chaque jour.



Photo 1 - Plantation de bananes de Capesterre belle Eau (Guadeloupe, FWI)

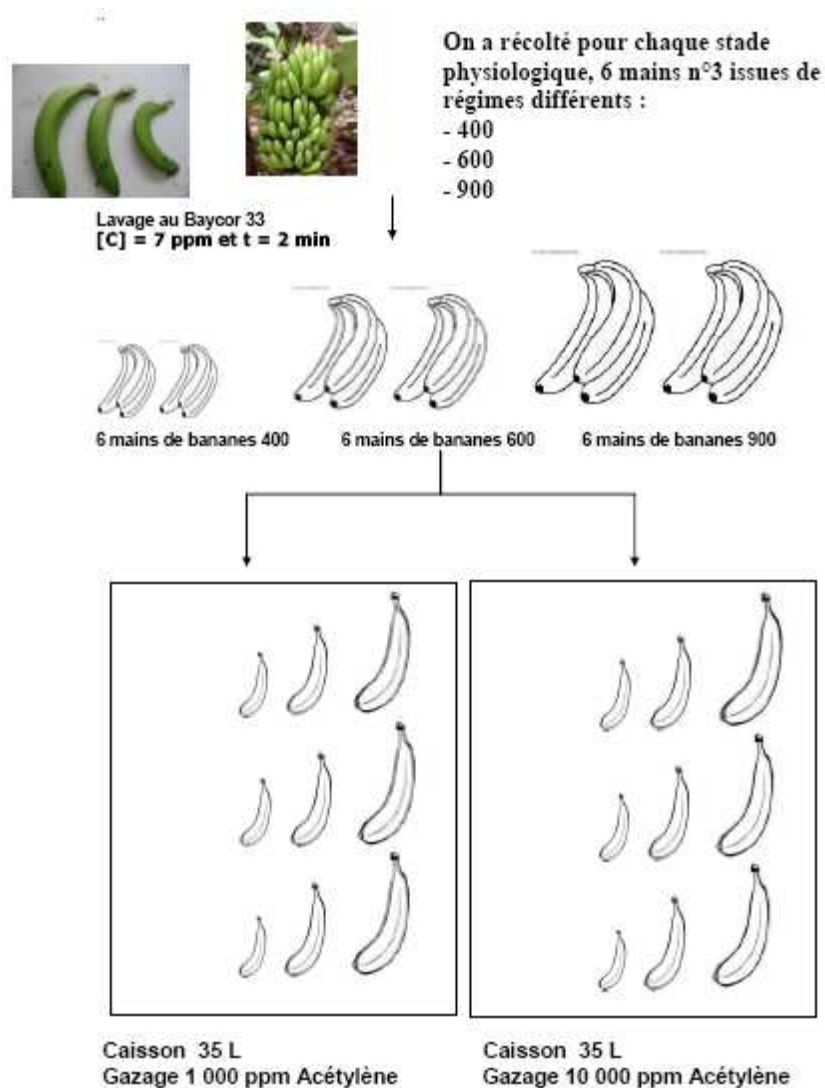


Figure 30 – Echantillonnage et procédé de mûrissement des fruits

## 2- Publication : Effects of the physiological harvest stages on bioactive compounds from FWI Cavendish bananas

### Type of paper: Research paper

Effect of the physiological harvest stages on composition of bioactive compounds from FWI Cavendish bananas

Christelle BRUNO BONNET<sup>1</sup>, Olivier HUBERT<sup>2</sup>, Didier MBEGUIE-A-MBEGUIE<sup>2</sup>, Dominique PALLET<sup>3</sup>, Abel HIOL<sup>1\*</sup>, Max REYNES<sup>3</sup>, Patrick POUCHERET<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Université Antilles Guyane – BP 250 - Campus Fouillole – 97157 Pointe-à-Pitre - Guadeloupe (FWI)

<sup>2</sup> CIRAD, UMR 95 Qualisud, Station de Neufchâteau - Sainte-Marie - 97130 Capesterre-Belle-Eau – Guadeloupe (FWI)

<sup>3</sup>CIRAD, UMR 95 Qualisud, 73 rue Jean-François Breton - TA B 95/16 - 34398 Montpellier Cedex 5

<sup>4</sup> Laboratoire de Pharmacologie et Physiopathologie Expérimentale, UMR 95 Qualisud, Faculté de pharmacie de Montpellier UM1- 15 avenue Charles Flahault- BP14491 – 34093 Montpellier cedex 5.

\* Corresponding author: Professor Abel Hiol Food sciences- Department of Biotechnological engineering, Institute of Technology - University of the French West Indies and Guiana, StClaude 97120, France. Email address [ahiol@univ-ag.fr](mailto:ahiol@univ-ag.fr); phone: 33 690 55 86 46

## **Abstract**

**The combined influence of maturation, ripening and climate periods on banana (*Musa Cavendish*, MC) bioactive compounds profile was studied. The polyphenol content of the 400 dd bananas remained unchanged ( $130.78 \pm 12.66\text{N}$  for peel and  $201.58 \pm 21.66\text{N}$  for pulp,  $p < 0.001$ ), while the 600 and 900 dd bananas exhibited a significant polyphenol increase during ripening, respectively  $137.068 \pm 10.57\text{N}$  for peel;  $175.87 \pm 22.82\text{N}$  for pulp and  $169.23 \pm 21.99\text{N}$  for peel;  $125.10 \pm 13.88\text{N}$  for pulp ( $p < 0.05$ ). Furthermore, the results showed that although dopamine was determined as the highest polyphenol in the banana peels during the green developmental stage and ripening, its kinetic differed from the total polyphenol profile. The post-harvest factors were optimized leading to  $3.02\% \pm 0.04$  ( $p < 0.05$ ) of dopamine in MC peels. Together our results showed that this matrix of choice (maturation, ripening and climate) may allow selection of MC status for optimal concentration in identified compounds with human health relevance.**

**Keywords:** banana, ripening, harvest ages, polyphenol, dopamine, starch.

## Introduction

The banana is now produced in about 120 countries on the five continents, and is among the most cultivated of all fruits (Lassoudière, 2007). About 85% of banana production is used for local consumption or industrial purpose, only 15% is exported (Lescot, 2006). In the French West Indies (FWI) the *Musa Cavendish* banana (MCB) is almost the sole cultivar and unfortunately often grown as intensive monoculture. Despite its contribution in the local economic activities, the high production up to 500 000 tons/year may face global competition, environment and more importantly industrial processing issues. However the quality screenings for the industrial processing of banana require several parameters such as cultivar, development stages and post-harvest characterization. The health awareness with the relevant for novel functionality has increased the demand of banana-based products with good health benefits. The most abundant compounds in bananas such as carbohydrate, including starch and soluble sugars have been scattered studied but only few works have focus on the kinetic accumulation of the bioactive compounds. Furthermore the Banana chemical composition has been reported in both mineral, dietary fiber and as a good source of Vitamin C, E. Similarly the galocatechin, catechin, and epicatechin were previously identified from banana (Someya et al, 2002) however the maturation stage and the post-harvest treatments were not specified in the study. Despite the status of banana as climacteric fruit, the distribution of bioactive and nutritional compounds was slightly described by optimizing several parameters. Here the influence of maturation and ripening on banana (*Musa Cavendish*, MC) bioactive compounds profile was studied on green developmental stages 400, 600, 900 degree-day. Banana general features and chemical composition were assessed. We showed that pre-harvest factors (climate and maturation) affected fruit weight, starch and polyphenols/dopamine levels with an inverse correlation between maturity and compounds concentration. Additionally dry period and immaturity differentially increased total content of polyphenols compare to dopamine. Post harvest factor (ripening) impacted chemical evolution profile depending on both development stages. This work may also contribute to the FWI banana label by validating data about nutritional values of some bioactive compounds. Indeed, they will complete the organoleptic and chemical data about FWI MC banana.

### - Material and methods

#### o Materials

The *Musa cavendish* bananas used in this study were harvested in October, during the hot humid season (wet period, WP) and in May, during the cool dry season (dry period, DP) as previously

described (Bugaud et al., 2007). All bananas were grown in the same soil zone and obtained from CIRAD Neufchâteau station, at Sainte Marie, Capesterre-belle-Eau, in Guadeloupe (FWI).

All tissues used in this study were harvested from six banana plants (*Musa acuminata*, AAA, *cavendish*, cv Grande Naine) grown at the CIRAD research station (elevation: 250 m; andosol; rainfall: 3500 mm/year), Guadeloupe (French West Indies). During growth, bunches on banana plants were covered with blue plastic bags to hamper insect infestations, and to streamline the development of whole fruits on the bunch. Based on the heat unit concept (Ganry and Meyer, 1975, Jullien et al., 2008), green fruits were harvested at three developmental stages, namely 400 (immature green or iMG-fruit), 600 (early mature green or eMG-fruit) and 900 dd (late mature green or lMG-fruit) corresponding to approximately 40, 60 and 90 days after flowering (Mbéguié-A-Mbéguié et al., 2007). At each harvesting time, only internal fingers of the median hand on the bunch, considered as comparable (Liu, 1976), were taken into account for each bunch. After harvest and antifungal bath, all fruits were kept for 24 h at 20°C in chambers ventilated with humidified air before treated with 1000 or 10000 ppm of acetylene for 24 h at 20°C and ambient humidity. From 1 to 9 days after treatment (DAT), a sample of three fruits was taken daily and subjected to physico-chemical analyses including color, peel hardness, pulp firmness, and dry matter measurement. Peel tissue without apex and stalk and pulp tissues were frozen separately in liquid nitrogen. Then, one part of the sample was stored at -80 °C for total phenol compound and dopamine analysis and the other part was freeze-dried for starch and soluble sugars analysis

- **Color, peel hardness, pulp firmness, weight, pulp/peel ratio and dry matter measurement.**

The colorimetric coordinates of fresh banana peels were measured using a Minolta Chroma Meter CR 400 (color space CIE L \*, a\* and b \*). The rheological characteristics such as the pulp firmness and peel hardness were measured on fresh bananas using a TA-XT2 penetrometer. A cylindrical metal borer with a diameter of 4.9 mm penetrated the fresh unpeeled fruit at constant speed (2 mm/s) to a depth of 10 mm. The maximum force applied to break up the peel represented the peel hardness (expressed in Newton). The slope of the force/ time curve represented the fruit firmness (expressed in N/ s) as described by Breene (1975). For dry matter measurement two grams of fresh FWI *Cavendish* banana were oven dried at 105°C for 18 hours and then weighed.

- **Starch content measurement**

Fruit starch content (in %) was determined by the differential scanning calorimetry (DSC) method (Sievert & Holm, 1993, Mestres et al., 1996). For this study, 9 mg of freeze-dried pulp powder was extracted with 40 µl of water purified throughout Millipore purification system.

#### ○ **Determination of soluble sugars**

The soluble sugars were extracted from the banana matrix consisting of 1 g of freeze-dried banana pulp powder with 80% ethyl alcohol at 60°C, using an accelerated solvent extractor (ASE 200, Dionex Corp., Sunnyvale, USA). This extractor process under at 100 bar pressure allowed the use of small amount of solvents (20-30 ml). The soluble sugars extraction lasted 15 minutes. It was the first step in the soluble sugars quantification by HPLC.

The number of cycles was equal to 5 with a static time of 7 min and a 100% flush. The extracts were diluted, filtered at 0.45 µm and injected into an apparatus for high-performance liquid chromatography DX600 (Dionex Corp., Sunnyvale, USA) with a Carbopac MA-1 column. The eluant was sodium hydroxide 600 mM or 800 mM at a flow rate of 0.4 ml/min.

The program included an elution with sodium hydroxide 800mM, lasting 10 mins, followed by a gradient from 800 to 600 mM, for 10 mins, then back to 800mm for 10mins, and finally a plateau of 10min at 800 mM. Following separation, the sugars were detected by amperometry at an impulse (DAP or MAP). The amount of total soluble sugars was the sum of the detected concentrations of various polyols and carbohydrates compounds. It was expressed in grams per 100 grams of dry matter.

$$[(C_{mg} / l) * V * 100 * dil] / [P_s * 1000 * 1000]$$

Distilled water was used for all the samples and was obtained from water purified throughout Millipore purification system.

#### ○ **Total phenolic compounds content**

In order to assess total phenolic compounds, the Folin-Ciocalteu method was used (Waterman & Mole, 1996). Three grams of frozen native material (banana pulp or banana peel) were mixed into 7 ml acetone at 20°C for 10 min. The mixture was filtered (FT) and 25 µl of FT was added to 475 µl of water to obtain the crude extract (EB). Fifty-µl of FT and 3.5 ml of water were mixed together then 2 ml of this mixture was filtered through an OASIS HLB cartridge. Then 4 ml of water was used to rinse the aqueous extract (EA) from the cartridge. The absorbance was read at  $\lambda = 760$  nm and the results were expressed in mg gallic acid equivalent (GAE) /100 g dry matter.

#### ○ **Dopamine analysis**

Ten grams of frozen banana peel was mixed in 30 % acetone (v/v) at pH 2.5 (formic acid was used to reach pH 2.5), then filtered through a square (150 x 150 mm) Legallois filter of 73 g/m<sup>2</sup> of



weight with 0.17 mm thickness, 17-30 micrometer porosity with a 22 secondes time and a 1.25 kg/cm<sup>2</sup> resistance.

#### *High-performance thin layer chromatographic method TLC*

The extract was separated on HPTLC plates coated with 250 µm layers of silica gel Merck 60 F254, with n-butanol: glacial acetic acid: distilled water 7.0:2.0:1.0 (v/v) as the mobile phase.

A sensitive and accurate high-performance thin layer chromatographic method was used for the quantification of dopamine (Dighe et al., 2008). One gram of banana powder was extracted with acetone: acidified distilled water using 5% formic acid, 7.0:3.0 (v/v).

Dopamine standard (E. Sigma, France) and sample solutions were applied to the plates in 6 mm bands, spaced 6 mm apart and 10 mm from the bottom edge of the plate, by means of a Camag Linomat V applicator. The plates were developed to a distance of 80 mm from the bottom edge of the plates, with n-butanol: glacial acetic acid: distilled water 7.0: 2.0: 1.0 (v/v) as the mobile phase, in a Camag glass twin-through chamber, previously equilibrated with the mobile phase for 5 mins. Densitometric scanning was performed at 280 nm using the deuterium lamp. The scanned data was processed using WinCATS software. Detection was also performed with 0.2% ninhydrin vapor, at 105°C, after 5 min. Distilled water was used for preparing all the samples; the solutions and the mobile phase were obtained from a Millipore Milli Q water purification system.

#### ○ **Statistical analysis**

Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) using statistical software (Statsoft, version 7). The means were separated from each other by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ). Analyses were performed on three biological replicates.

#### Results and discussion

##### ○ *Peel color, peel hardness, pulp firmness, and pulp/peel ratio*

The physiological ages 400, 600 and 900 estimated as degree day (dd) exhibited different fruit weights respectively  $88.02 \text{ g} \pm 8.69$ ;  $117.88 \text{ g} \pm 20.09$  and  $208.71 \text{ g} \pm 21.98$ ;  $p < 0.001$ . The percentages of pulp varied from  $39.6 \pm 3.15 \%$ ;  $53.7 \pm 2.56 \%$  to  $60.6 \pm 2.07 \%$  respectively ( $p < 0.001$ ).

Banana fruit harvested at 400 dd and treated with 10 000 ppm of acetylene remained green and never yellowed throughout the postharvest ripening period (2- 4 days) while fruit from the same cultivar harvested at 600 dd and 900 dd displayed statistical and significant ( $p < 0.05$ ) color change

of peel (Fig 2). Fruits harvested at 900 dd responded two days earlier than those at 600 dd furthermore the color modification (yellow) was denser (data not shown).

No marked change of peel hardness nor pulp firmness was observed during postharvest ripening of banana fruit harvested at 400 dd. The peel hardness of 600 and 900 fruits displayed a similar evolution pattern starting at day 4 ( $29.88 \pm 4.78$  N) and 3 ( $32.06 \pm 3.03$  N, respectively).

With regard to pulp firmness, no marked change was observed for fruit harvested at 600 dd. Those harvested at 900 dd exhibited a decrease of pulp firmness from day 0 ( $24.17 \pm 1.08$  N) to day 6 ( $2.05 \pm 0.37$  N) after acetylene treatment and they remained constant at  $2.05 \pm 0.37$  N after day 9 (fig1).

During postharvest ripening, the average percentage of pulp fruit was higher for bananas harvested at 600 dd ( $53.79 \pm 2.57$ ) and 900 dd ( $60.6 \pm 2.07$  %) compared to those harvested at 400 dd ( $39.61 \pm 3.15$ ). The average fruit weight was significantly more elevated for 900 dd bananas ( $208.71 \text{ g} \pm 21.98$  with  $p < 0.001$ ) than for 400 dd ( $88.02 \text{ g} \pm 8.69$ ) and 600 dd ( $117.88 \text{ g} \pm 20.09$ ). However, the pattern of pulp ratio and fruit weight evolution remained constant for all fruits during the same period (fig 1).

The results obtained for 1000 ppm acetylene treatment (data not shown) generated similar profiles; difference in acetylene concentration (1000 or 10 000 ppm) may only induced, respectively, a delay or acceleration of ripening.

Von Loesecke (1950) classified banana ripening in eight stages according to peel color. In addition, pulp firmness and peel hardness are also valuable parameters as ripening indicators (El Zoghbi, 1994; Ali, Chin and Lazan, 2004, Manrique and Lajolo, 2004). It is known that, banana fruit undergoes a climacteric ripening process. Such fruit can ripen independently ex-planta once the ability to respond to ethylene or its analogue (i.e acetylene) is acquired. Based on these criteria, our data suggest that fruit harvested at 400 dd did not display change on ripening parameters (i.e. color, peel hardness and pulp firmness) therefore did not acquire the ability to ripen and are physiologically unable to ripen whatever the acetylene treatment concentration. In consequence fruits harvested at 400 dd can be considered as immature green (IMG) fruit whose physiological mechanism leading to respond to ethylene is not achieved. This is in contrast with fruit harvested at 600 and 900 dd. Our results demonstrate that banana 600 and 900 dd are respectively able to ripen partially and fully, and thereby can be both considered as mature green fruit. The differences between these two mature green fruits in term of the development of ripening criteria suggest that the physiological mechanism leading to full response to ethylene and ripening occurs sequentially. This mechanism is partially achieved at 600 dd (early mature green stage or *e*MG) as its peel

yellowed and softened while its pulp remained firm whereas for 900 dd (late mature green stage), the mechanism is completely achieved leading to a fully ripening fruit.

#### ○ **Starch and soluble sugars evolution**

Banana starch content, before gassing (HT) was significantly higher in fruit harvested at 900 and 400 dd during the DP (figures 3). After acetylene treatment, the pattern of starch content from day 2 to 8 after ripening induction was identical compare to the climatic periods. Indeed fruits harvested at 600 and 900 dd showed starch-decreasing profiles during postharvest ripening in both DP and WP. The starch content level drop being significantly greater for the WP than for the DP (74% versus 37% for banana 900). Conversely for fruit harvested at 400 dd, starch content remained stable in both climatic conditions. Soluble sugar evolution profiles were identical in all bananas whatever the climatic period and the ripening stages. However, after ripening induction, soluble sugar content significantly increased in fruit harvested at 600 and 900 dd whereas it remained stable in banana 400, characterized by the lowest sugar level. All these results suggest that DP tend to promote starch synthesis in banana during pre-harvest developmental phase without impact on soluble sugar content and profile. Ripening, whatever the climatic period, induced a decrease of starch content associated with a concomitant major soluble sugars increase in 600 and 900 bananas (78 to 88% of sugar increase for 600 and 900 dd fruit vs 400 dd fruit) yet a very limited or no increase in 400 dd bananas. Starch is the major component of green bananas, and it undergoes important changes during ripening (Cordenunsi and Lajolo, 1995; Do Nascimento et al., 2006). Taken together, our observations suggest that climatic period can influence initial banana starch content and its evolution during ripening but not soluble sugar level or its evolution profile post-gassing. Ripening would influence neither starch nor sugar content but would impact on soluble sugar evolution in response to ripening induction. This is in agreement with our results on peel and pulp analysis. Indeed, contrary to bananas 400 dd, bananas, bananas 600 and 900 having developed enzymatic ripening ability, their more mature metabolism induce conversion of starch in soluble sugar after gassing. These bananas could be great candidates for starch extraction in order to solve storage problems such as ripening that occurs at room temperature after a few days.

#### ○ **Total polyphenol compounds content and optimization**

Whatever the green developmental stages, total polyphenol content was higher in fruit harvested at DP than those harvested at WP (fig 5: a, b, c, d). Total polyphenol compounds were also

significantly higher in fruit harvested at 400 dd compared to those harvested at 600 and 900 dd whatever the climatic period (DP or WP). After 1000 ppm (data not shown) acetylene gassing, total phenolic compounds levels remained stable in the fruit pulp and peel whatever their developmental stage (i.e. 400, 600 and 900 dd). However, 10 000 ppm of acetylene gassing induced a total polyphenol compounds decrease at all developmental stages. The pulp was most affected by this lowering (Figure 5 a, b, c, d).

These results suggest that climatic harvest period has an impact on total polyphenol content with DP promoting high polyphenol concentration. In addition the pre-harvest maturation process clearly influences banana polyphenol content with an inverse correlation. Immature green fruits contain more polyphenols than mature green ones. This correlation is therefore age-dependent. Acetylene treatment influence was traduced by a decrease in phenolic content in all bananas (400, 600 and 900 dd). This impact could be expected for 600 and 900 dd bananas since they are ripenable fruits. However, it is surprising to note that non-ripenable 400 dd bananas, did respond in the same way as older fruits even though the kinetic was clearly different with retention of higher polyphenols levels in the five first days following ripening induction. This observation could also suggest that the level of total phenolic compound is not associated to the capacity of fruit to ripen and therefore to respond to ethylene or its analogue (i.e acetylene). Thus the decreased of total phenolic component observed during postharvest ripening could be related to the fruit developmental stage more than to acetylene treatment. It might be concluded that 400 dd bananas demonstrates a clear difference in their metabolic behavior and response to external stimuli favoring in the present case the production and maintenance of a high concentration of polyphenols that might be consumed at another maturation stage during ripening.

#### ○ Dopamine profile during repining

Previously the high dopamine level was reported in banana peels (Kanazawa and Sakakibara, 2000). Although, dopamine remained the highest phenolic compound, figures 6 (a, b) indicated that the concentrations of dopamine and total phenolic compounds evolved differently during ripening ( $p < 0.05$ ). Independently to the climatic period, bananas peel dopamine content was inversely correlated to the green developmental stage and more specifically to maturation stage. However the lowest concentration was determinated for fruit harvested at 900 dd followed by 900 dd while the highest concentration was obtained for 400 dd banana. Ripening evolution was characterized by a significant decrease for all developmental stage of fruits harvested during the WP. This evolution was different for the DP. Indeed, fruit harvested at 400 dd showed an increase of dopamine level 4

days after ripening induction whereas this level remained stable for fruits harvested at 600 and 900 dd. Decrease of dopamine content recorded for WP might be due to senescence and other mechanisms such as the oxidation of dopamine into salsolinol as previously suggested by Svyedrich et al., 2004.

### **- Conclusions**

The present study showed that pre-harvest parameters influence banana chemical composition in bioactive compounds. Climate impacted on starch and polyphenol/dopamine content. Dry period promoted elevated compounds concentration. Maturation stage influenced weight, ripening ability and polyphenol/dopamine levels with an inverse correlation between maturity and molecule content.

In addition post-harvest parameters also played a role in fruit composition. Indeed ripening differentially influenced starch, sugar and polyphenols evolution profiles. This influence seemed to be related to both fruit development stage and climate conditions.

Taken together, our results allow determining which climate conditions, maturation stage and ripening level to choose for optimal content in target compounds. The interest of this knowledge lies in the possibilities of: (i) selection of banana at the proper biochemical status for potential nutrition and health benefits, (ii) extraction of bioactive compounds (iii) and new cultivar selection to promote biotechnology applications.

## Acknowledgements

Christelle Bruno Bonnet was supported by the French region country Government long term fellowships. Most the experiments were conducted at the Laboratoire de Pharmacologie et Physiopathologie Expérimentale, UMR 95 Qualisud, Faculté de pharmacie de Montpellier UM1 directed by Professor Patrick Poucheret.

## Abbreviations

C (mg / l): concentration in milligrams per liter  
Dil: dilution factor before chromatographic assay

Dd: degree day

DP: Dry period

DW / DM: dry matter

FT: mixture filtered

FWI: French West Indies

HT: no acetylene treatment

Min: minute

N: Newton

Ps: sample in grams

S: second

V: volume of the flask used (50 ml)

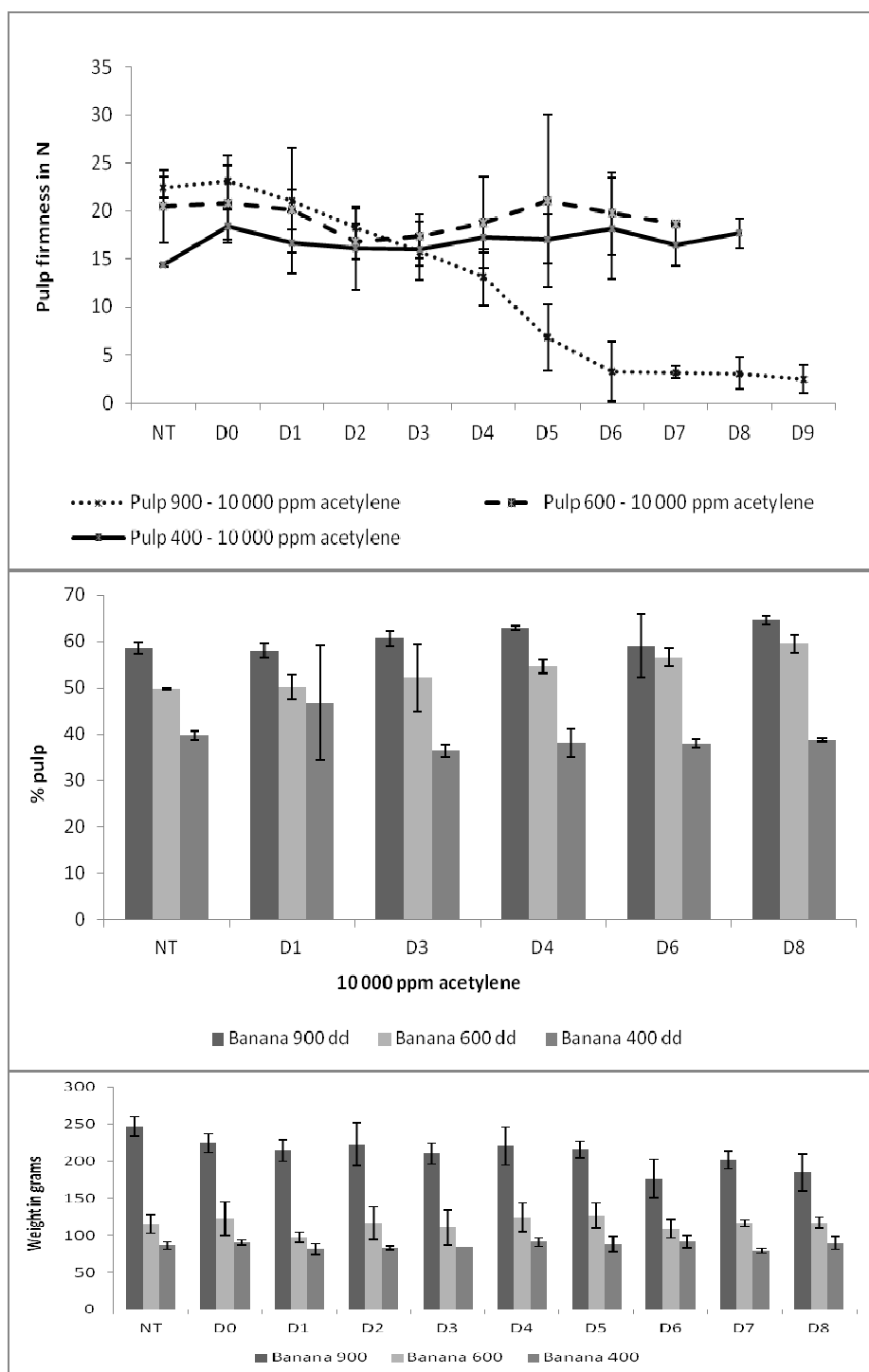
WP: Wet period

## References

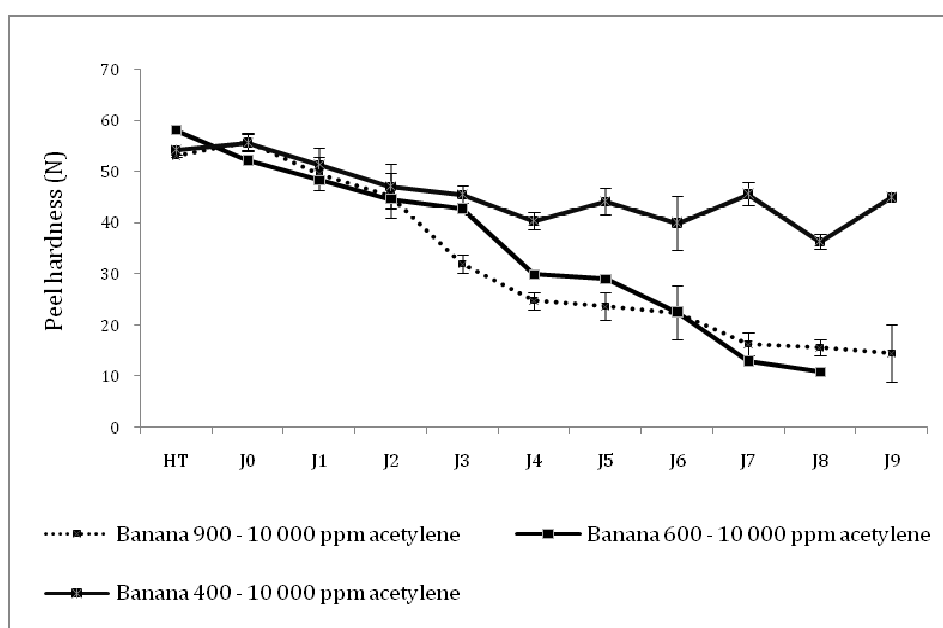
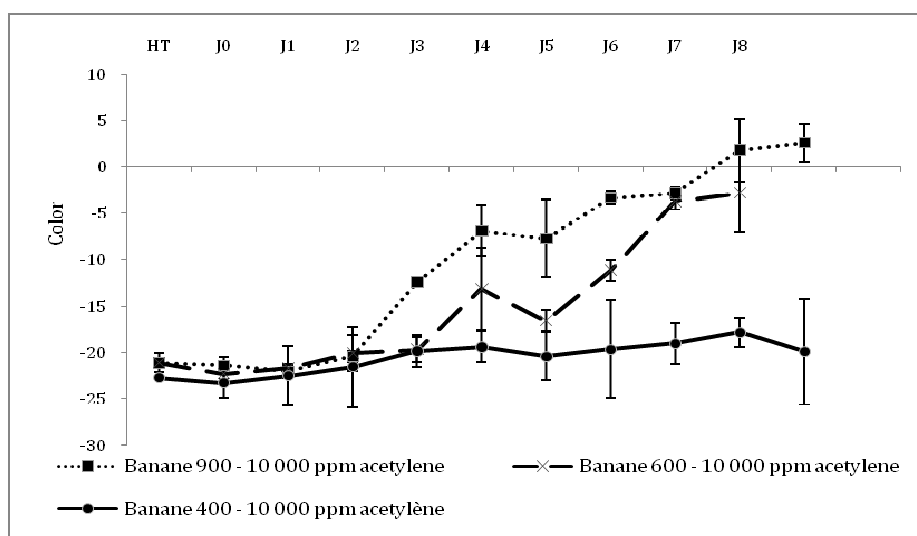
- Ali, Z.M., Chin, L., Lazan, H., 2004. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. *Plant Sci.* (167): 317-327.
- Breene, W.M., 1975. Application of texture profile analysis to instrumental food texture evaluation. *J. Text. Stud.* (6): 53 – 82.
- Bugaud, C., Daribo, M.O., Dubois, C., 2007. Climatic conditions affect the texture and colour of Cavendish bananas (grande naine cultivar). *Sci. Hortic.* (113): 238- 243.
- Cordenunsi, B.R., Lajolo, F.M., 1995. Starch breakdown during banana ripening: sucrose synthase and sucrose phosphate synthetase. *J. Agri. Food Chem.* (43): 347-351.
- Dighe, V., Dhotre O., Parekh, G., Gursale, A., 2008. Quantification of dopamine in *Portulaca oleracea* Linn. By high performance thin layer chromatography. *J. Planar Chromatogr.* 21(3): 183 – 186.
- Do Nascimento, J.R.O., Vieira, A. Bassinnello, P.Z., Cordenunsi, B.R., Mainardi, J.A., Purgatto, E., Lajolo, F.M., 2006. Beta-amylase expression and starch degradation during banana ripening. *Postharvest Bio. Technol.* (40): 41-47.
- El Zoghbi, M., 1994. Biochemical changes in some tropical fruits during ripening. *Food Chem.* (49) : 33 -37.
- Ganry, J., Meyer, J.P., 1975. Recherche d'une loi d'action de la température sur la croissance des fruits du bananier. *Fruits.* (30): 375–392.
- Jullien, A., Chillet, M., Malezieux, E., 2008. Preharvest growth and development determine postharvest green life of fruit in *Musa* (*Musa* sp. AAA group cv Grande Naine (Cavendish subgroup). *J. Hortic. Sci. Biotech.* (83): 506-512.
- Kanazawa, K., Sakakibara, H., 2000. High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana. *J. Agric. Food Chem.* (48): 844 – 848.
- Lassoudière, A., 2007. Production, exportation et importation. In *Le bananier et sa culture, Quae, Eds.,; Publisher Savoir Faire, Versailles, France, (1) : 97 – 106.*
- Lescot, T., 2006. Banane: production, commerce et variétés. *Fruit Tropical*, (140), 5-9.

- Liu, F., 1976. Correlation between banana storage life and minimum treatment time required for ethylene response. *Journal of American Society Horticultural Science* (101): 63–65.
- Manrique, G.D., Lajolo, F.M., 2004. Cell wall polysaccharide modifications during post-harvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). *Postharvest Bio. Technol.* (33): 11-26.
- Mbéguié-A-Mbéguié, D., Hubert O., Sabau X., Chillet M., Fils-Lycaon, F-C. Baurens., 2007. Use of suppression subtractive hybridization approach to identify genes differentially expressed during early banana fruit development undergoing changes in ethylene responsiveness. *Plant Sci.* 172 (5): 1025- 1036.
- Mestres, C., Matencio, F., Pons, B., Yajid, M., Fliedel, G., 1996. A rapid method for the determination of amylose content by using differential scanning calorimetry. *Starch.* (48): 2-6.
- Nguyen, T.B.T., Ketsa, S., Van Doorn, W.G., 2003. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biol. and Technol.* (30): 187-193.
- Riggin, R.M., McCarthy, M.J., Kissinger, P.T., 1976. Identification of salsolinol as a major dopamine metabolite in the banana. *J. Agric. Food Chem.* (24): 189-191.
- Sievert, D., Holm, J., 1993. Determination of amylose by differential scanning calorimetry. *Starch-Starke.* (45): 136-139.
- Someya, S.; Yoshiki, Y.; Okubo, K., 2002. Antioxidant compounds from banana (*Musa Cavendish*). *Food Chem.* (79): 351-354.
- Sviedrych, A., Lorenc-Kukuła, K., Skirycz, A., Szopa, J., 2004. The catecholamine biosynthesis route in potato is affected by stress. *Plant Physiol. Biochem.* (42): 593-600.
- Von Loesecke, H.W., 1950. Bananas: chemistry. In *Bananas chemistry, physiology, technology*. Interscience Publishers: New York, USA, 189.
- Waterman, P.G., Mole, S., 1996. Analysis of phenolic plant metabolites. In *Methods in ecology*. Blackwell Scientific Publications: Oxford, Great Britain, 238.

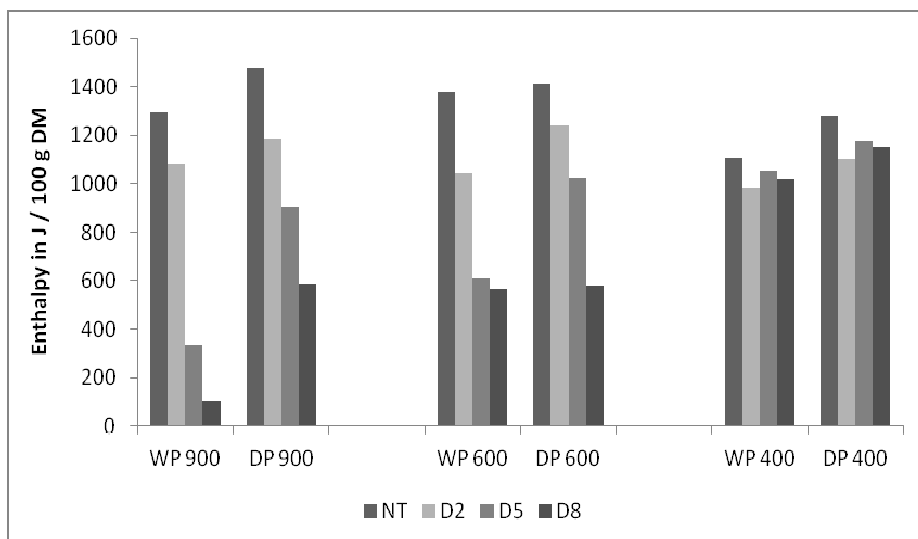




**Figure 1 – Characterization of Pulp firmness, ratio of the pulp and weight (g) of the Cavendish bananas at different physiological stages (WP).**

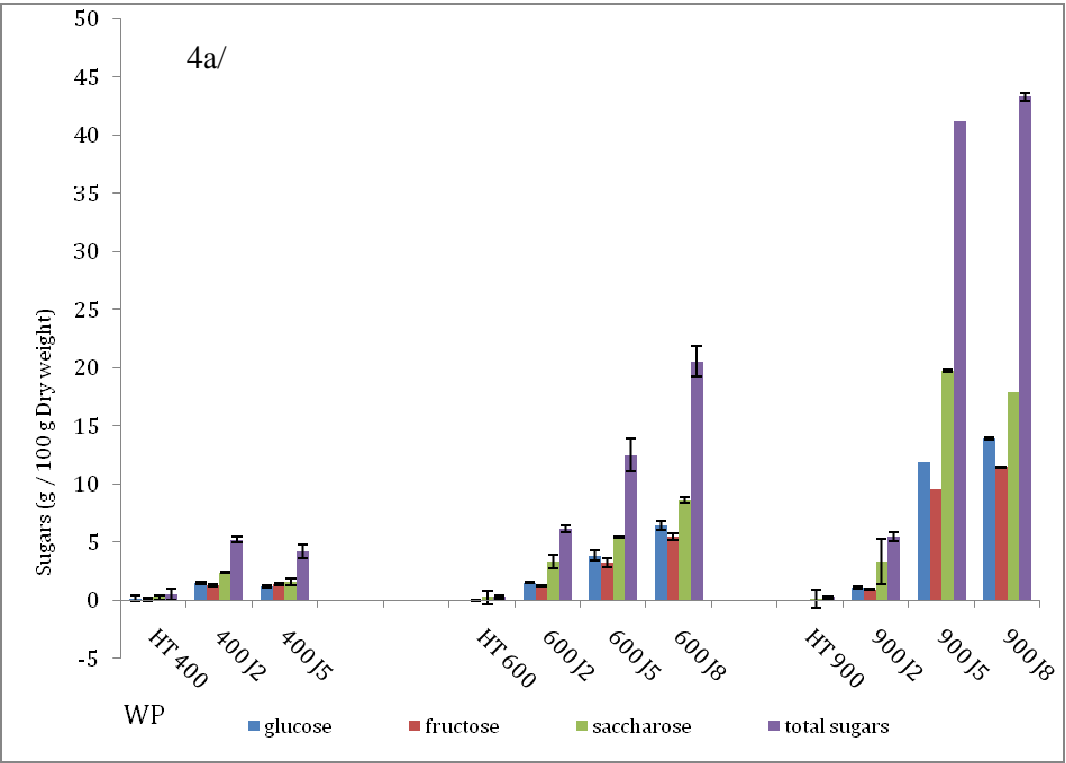


**Figure 2 –Comparison of Peel hardness and color at 400, 600 and 900 dd bananas during ripening (WP)**

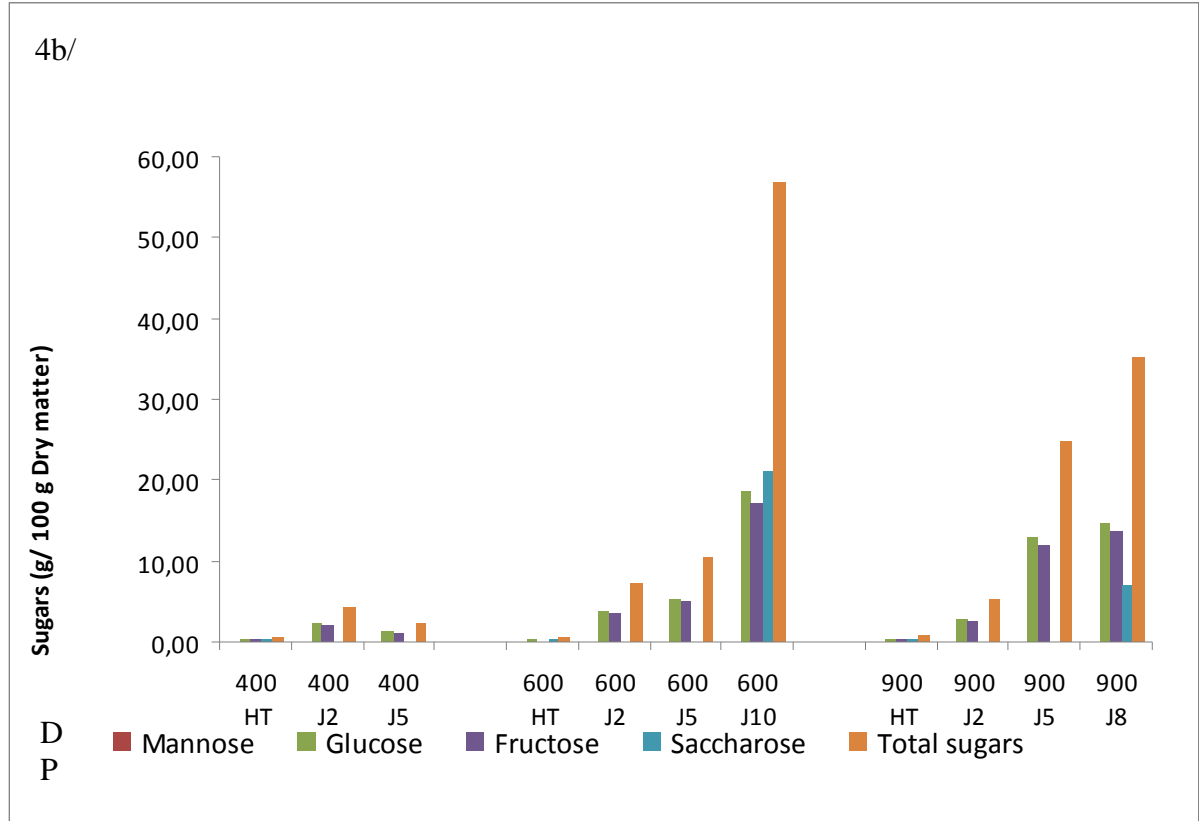


**Figure 3 – Modification of enthalpy limits for the WP and DP. The starch content determination was tested for bananas harvested in WP and DP. The 1000 and 10 000 ppm acetylene gassing is shown.**

4a

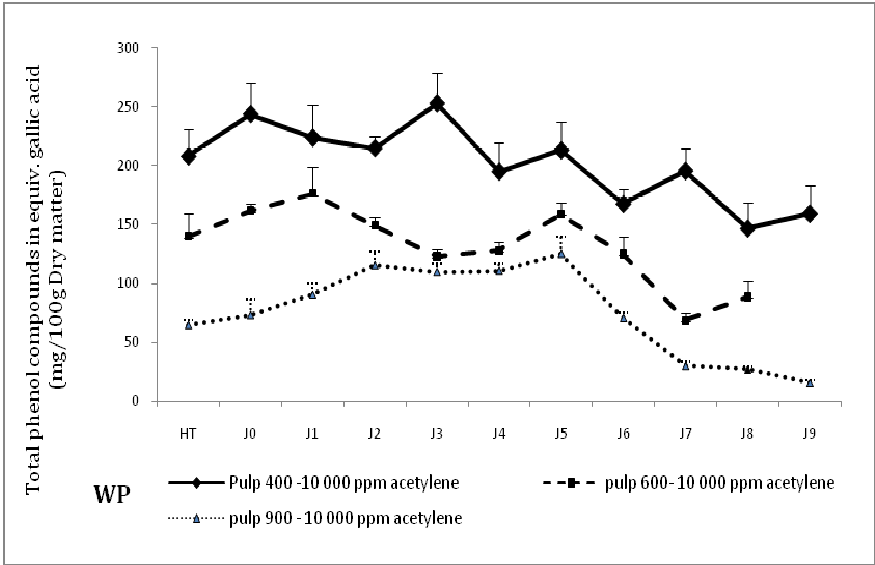


4b/

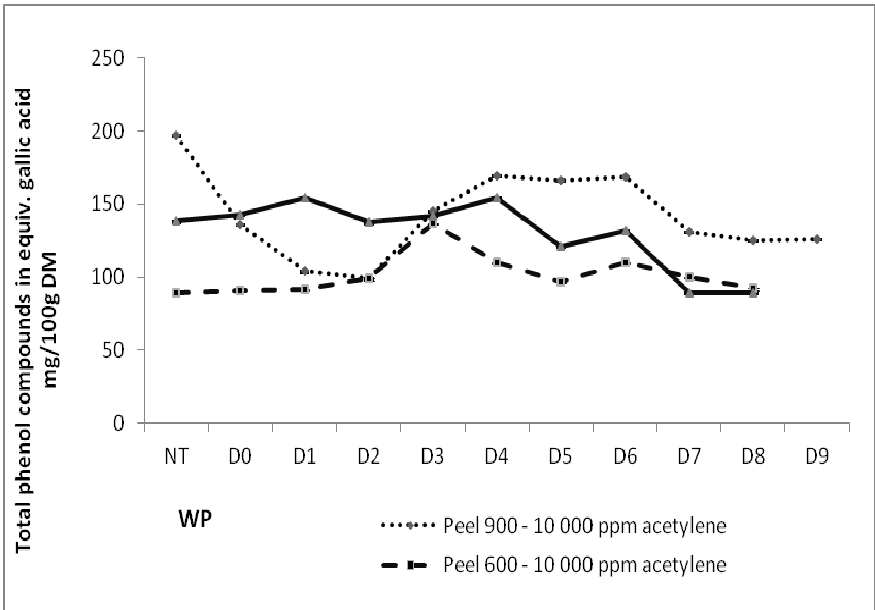


**Figures 4 a, b – Soluble sugars variation in FWI Cavendish harvested at three different physiological harvest stage in both WP (a) and DP (b).**

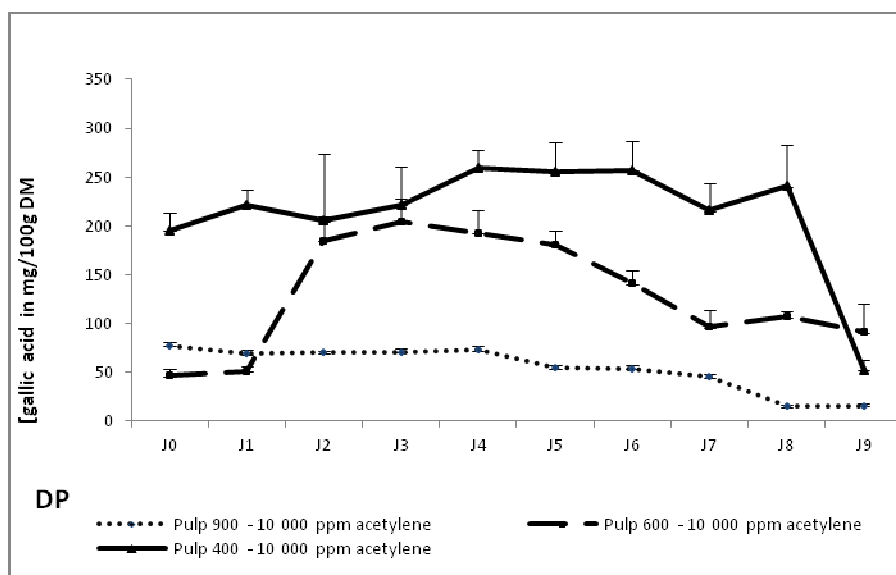
**5a**



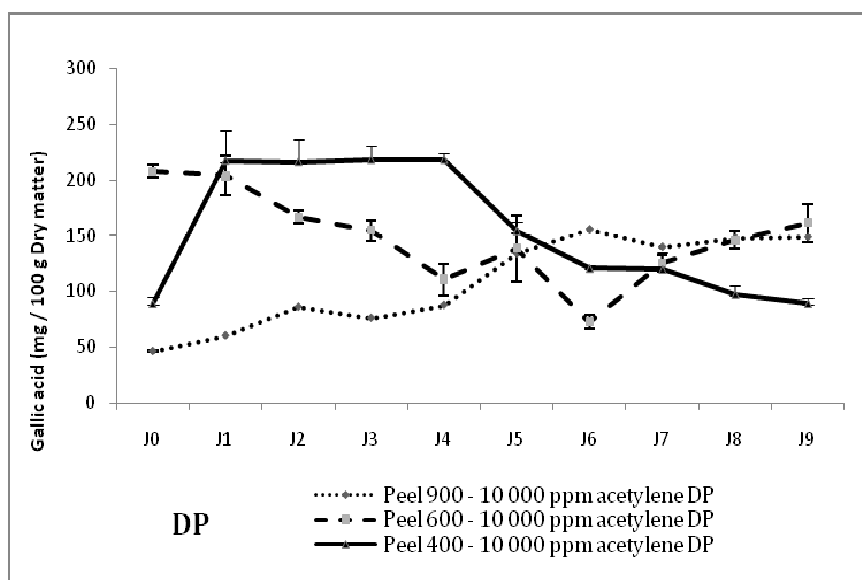
**5b**



5c

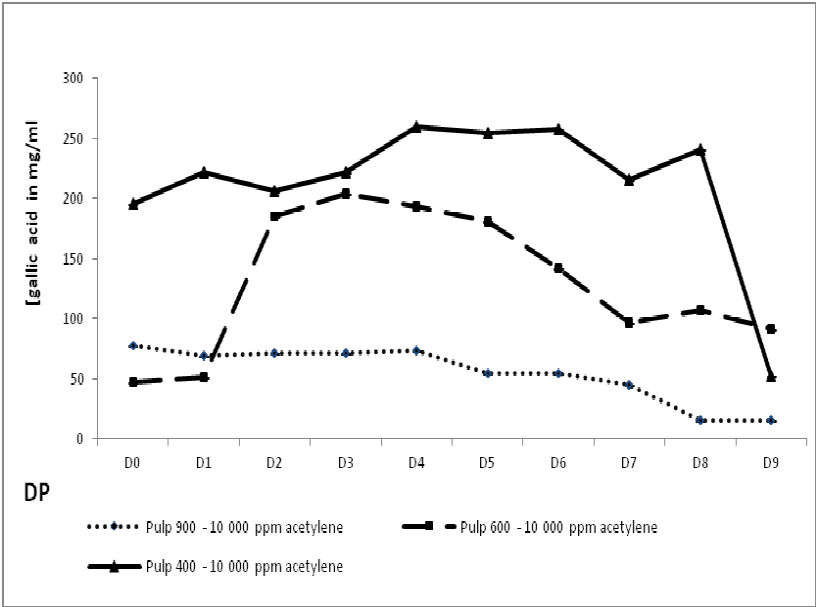


5d

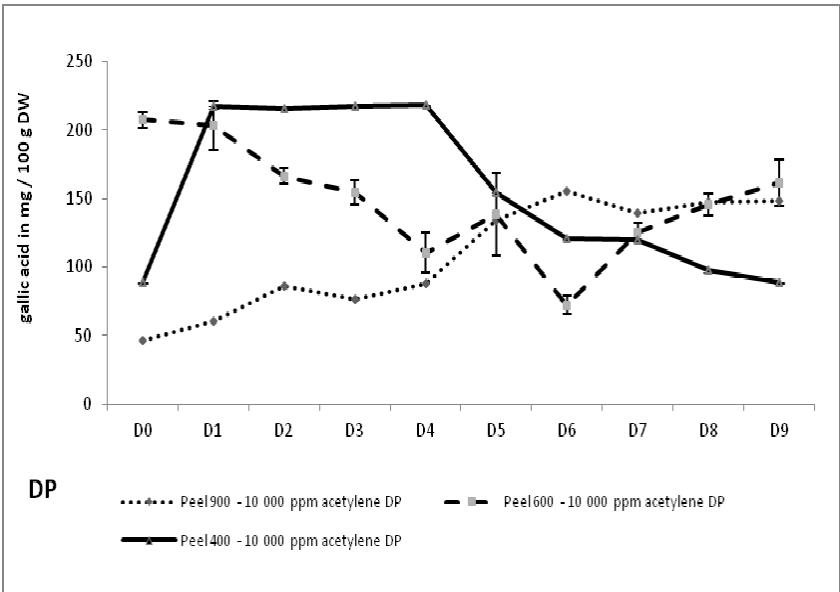


Figures 5 a, b, c, d– Total polyphenol profile of fruits harvested in DP and WP (400, 600 and 900 dd)

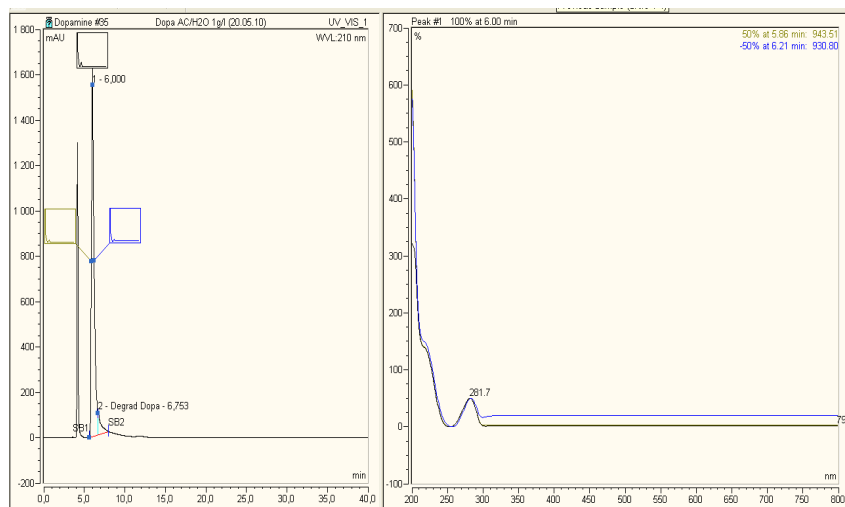
6a



6b



6c



**Figures 6 a, b, c - Dopamine contents in FWI Cavendish bananas harvested in WP (figure 6 a) and DP (figure 6 b). UV spectra of dopamine standard solution and dopamine in banana extract (figure 6 c).**Chapitre 2 – Evaluation quantitative des procédés sur les teneurs en molécules nutrificationnelles



## Chapitre 2 - Evaluation quantitative des procédés sur les teneurs en molécules nutrifonctionnelles

### 1 - Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

#### 1.1 – Matériels et méthodes

##### 1.1.1 - Descriptif du pilote expérimental d'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

Le pilote utilisé pour les extractions était un pilote d'extraction-séparation de type SFE 200 commercialisé par la société Separex (France). Ce pilote correspond au matériel technologique couramment utilisé pour réaliser industriellement des opérations d'extraction-séparation ou de réaction-séparation, en mode continu ou semi-continu. L'extracteur est une enceinte tubulaire au sein de laquelle il est possible de traiter des matières solides ou liquides. Pour notre expérimentation, l'enceinte a été utilisée afin d'extraire la matière végétale avec du CO<sub>2</sub> liquide ou supercritique. (figure du pilote expérimental d'extraction- séparation SFE 200 par fluide supercritique)

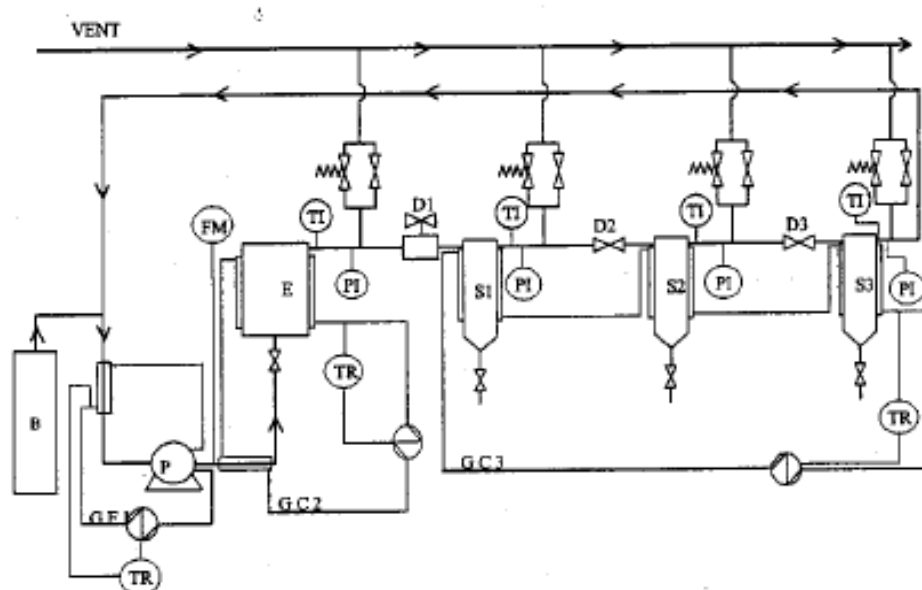


Figure 31 - Pilote expérimental d'extraction- Séparation SFE 200 par fluide supercritique

TR : Régulateur de Température	C : Contacteur
PI : Indicateur de Pression	S1, S2, S3 : Séparateurs cycloniques
GF : Groupe de Froid	D : Déverseur (régulateur de pression de C)
GC1, GC2 : Groupes de Chaud	VD1, VD2 : Vannes à pointeau (réglage des débits de sortie de S1 et S2)
E1 : Echangeur de chaleur froid	VD3 : Vanne de vidange
E2 : Echangeur de chaleur chaud	
FM : Débitmètre	

En sortie de bouteille (B), le CO<sub>2</sub> a d'abord été sous-refroidi à l'aide d'un groupe froid MATON CA 50 (GF) et d'un condenseur (E1) ; le CO<sub>2</sub> devant se trouver à l'état liquide pour éviter la cavitation de la pompe. Une pompe (P) a permis d'amener le CO<sub>2</sub> à la pression désirée dans l'installation. Le solvant a été pompé par une pompe doseuse à membrane (DOSAPRO Milton Roy, ref. MD140F6M400/J7) dont le débit était réglé à 300 bars. Cette pompe était placée juste après et permettait de couper l'alimentation électrique de celle-ci en cas de surpression dans le système. Un débitmètre massique (MICRO MOTION réf. CH010) placé juste après le pressostat permettait de mesurer le débit instantané, la masse cumulée l'ayant traversé, ainsi que la masse volumique et la température du fluide.

Le CO<sub>2</sub> traversait ensuite un échangeur de chauffage (E2) avant d'atteindre l'extracteur. Le CO<sub>2</sub> à l'état supercritique était alors introduit : soit au bas de l'extracteur (configuration « upflow », soit en haut de l'extracteur (configuration « downflow »).

La pression dans l'extracteur était régulée grâce à un déverseur (D1, Tescom, ref. 26-1763-24-043) soit un régulateur de pression amont, placé en aval de l'extracteur et traversé par le fluide sortant de celui-ci. Ce déverseur permettait de maintenir la pression à l'intérieur de l'extracteur à une valeur pratiquement constante. Lorsque la pression à l'intérieur de l'extracteur devenait inférieure à la pression à laquelle le déverseur avait été réglé, celui-ci se fermait. La température était régulée grâce à un groupe chaud (GC1). Le fluide caloporteur circulant dans la double enveloppe de l'extracteur permettait également de chauffer le CO<sub>2</sub> avant son introduction dans l'installation.

Le fluide sortant de l'extracteur traversait alors une série de trois séparateurs. Les pressions dans les séparateurs S1, S2 et S3 étaient fixées grâce à des vannes à pointeau de précision (Hoke, milli-mite, réf. 1315G4Y) placées dans les tubulures de sortie (D1, D2 et D3). Le système a fonctionné en boucle fermée. Le fluide sortant de S3 était réintroduit en tête de pompe après liquéfaction. La pression dans le troisième séparateur était alors égale à la pression de la bouteille de CO<sub>2</sub> (environ 50 bars) car de façon à compenser les éventuelles chutes de pression, celle-ci restait ouvert en permanence.

Deux systèmes de chauffe ont été utilisés pour la régulation de la température sur les séparateurs. Le premier était un groupe de chaud (GC2) qui assurait la circulation d'eau dans les doubles enveloppes de S1 et S2. Le second était un bain thermostaté externe rajouté pour avoir une température différente dans S3.

Des sondes de température étaient placées en sortie de chaque élément du procédé et indiquaient la température avec une précision de 0.1°C. Les pressions étaient mesurées grâce à des manomètres

dont la précision était de l'ordre de 1 bar. Des vannes placées en pied de chaque élément permettaient de composer les composés extraits.

La pression dans le système était limitée à 300 bars. Les températures pouvaient être comprises entre -10 et 80°C. Le volume de l'extracteur était de 200 cm<sup>3</sup>, celui des séparateurs cycloniques d'environ 15 cm<sup>3</sup>. Le débit maximum de CO<sub>2</sub> utilisable était de l'ordre de 5 kg/h

### 1.1.2- Protocole expérimental

#### 1.1.2.1- Configuration du pilote

Le pilote expérimental précédemment décrit nous a permis d'étudier l'extraction de composés polyphénoliques à partir de matières végétales en mode semi-continu. Le CO<sub>2</sub> était continuellement introduit dans l'installation et était utilisé pour extraire les matières végétales (peau et pulpe de bananes Cavendish FWI) initialement introduites dans l'extracteur.

Nous avons comme nous l'avons déjà précisé utilisé le système en boucle fermée pour l'extraction des composés polyphénoliques et stéroliques à partir de peau et pulpe de bananes. La boucle fermée est plus intéressante pour le procédé d'extraction car il dure quelques heures et ainsi il y a moins de pertes de CO<sub>2</sub>.

#### 1.1.2.2 – Principe d'une manipulation d'extraction en CO<sub>2</sub> supercritique

La quantité de matière végétale introduite dans l'extracteur a été précisément déterminée par pesée de l'enceinte tubulaire vide, puis contenant le solide. Des filtres ont été placés aux deux extrémités du cylindre, pour arrêter l'entraînement de particules solides. L'enceinte tubulaire a ensuite été introduite dans l'extracteur, puis les systèmes de chauffe ont été mis en route. Les températures désirées dans chacune des unités ont été fixées par l'intermédiaire de températures de consignes indiquées aux groupes de chaud (GC1 et GC2) et au bain thermostaté. Lorsque les températures fixées ont été atteintes, le CO<sub>2</sub> a été introduit dans l'installation, la pompe ayant été préalablement réglée selon le débit d'entrée de CO<sub>2</sub> désiré. Pour obtenir la pression désirée dans l'extracteur est d'abord réglée, puis celle du premier séparateur, puis celle du deuxième et enfin celle du troisième.

### 1.1.2.3- Récupération

Afin de connaître l'évolution au cours du temps de la composition d'un extrait dans les trois séparateurs, des prises d'échantillons sont effectuées. Pour l'étude des quantités extraites à partir de la matière première, le prélèvement est effectué soit dans un seul séparateur soit dans les trois séparateurs ou bien encore le prélèvement issu des trois séparateurs est traité comme un seul échantillon. Les prélèvements sont réalisés grâce aux vannes placées en pied de chaque élément. Au cours d'une manipulation, le liquide condensé après détente s'accumule dans les séparateurs.

### 1.1.3 – Préparation et analyse des différentes matières premières

Les extractions de composés polyphénoliques ont été réalisées à partir de peau et pulpe de bananes 900 dd, à l'état frais et séché, pour différents degrés de mûrissement (vert, vert jaune et jaune tigré).

#### 1.1.3.1 – Les bananes

Les peaux et pulpes séchées de bananes HR 8% ont été broyées dans un broyeur type « moulin à café » et la distribution de taille de particules a été déterminée par tamisage. Les bananes provenaient d'une bananeraie située à Capesterre- Belle- eau. Les bananes utilisées sont des fruits récoltés au stade commercial soit à 900 dd.

Afin de réduire la teneur en eau, certains échantillons ont été séchés pendant 48h à 45°C. Les échantillons séchés ont ensuite été broyés et la distribution de taille des particules a été déterminée par tamisage.

Les échantillons prélevés sont analysés par chromatographie HPLC. Les échantillons à analyser sont préparés avec du méthanol.

#### 1.1.3.2 – Mesures complémentaires

##### 1.1.3.2.1 – Détermination du taux d'humidité du matériel végétal par thermogravimétrie

Pour calculer la quantité d'eau dans les peaux et pulpes de bananes Cavendish séchées utilisées pour la manipulation d'extraction en CO<sub>2</sub> supercritique, nous avons effectué des mesures

d'humidité à l'aide du Halogen moisture analyzer HB43. Le séchage a été réalisé par une méthode standard qui consistait à chauffer à 105°C nos échantillons et les maintenir à cette température jusqu'à ce que la masse ne varie plus. La quantité d'eau des peaux de bananes est égale à environ 8,87% en masse et celle des pulpes est égale à 7,92% en masse.

Echantillon Peau	Masse en g	Durée de séchage en min	Taux d'humidité en %
Echantillon n°1	0.990	3 :10	8, 81
Echantillon n°2	0.995	3 :52	8.84
Echantillon n°3	0.992	3 :02	8.75
Echantillon n°4	0.998	3 :55	9.10
Echantillon Pulpe			
Echantillon n°1	0.999	3 :08	7,75
Echantillon n°2	0.992	2 :47	7,79
Echantillon n°3	0.995	2,56	7,85
Echantillon n°4	0.993	2,57	8,29

#### 1.1.3.2.2 – Dosage du matériel végétal

Nous avons dosé les peaux et pulpes de banane après extraction exhaustive à l'hexane dans un extracteur de Soxhlet. L'extracteur sohxlet est représenté sur la figure.

Cet appareil permet un contact multiple du solide contenu dans la cartouche avec du solvant pur à température de condensation.

Le soxhlet constitue une référence en matière d'extraction solide-liquide. Il est important de relever qu'en réalité ce n'est qu'une méthode d'extraction parmi d'autres qui ne peut donner accès à autre chose qu'une quantité de matière extractible, sans présumer du contenu réel du solide.

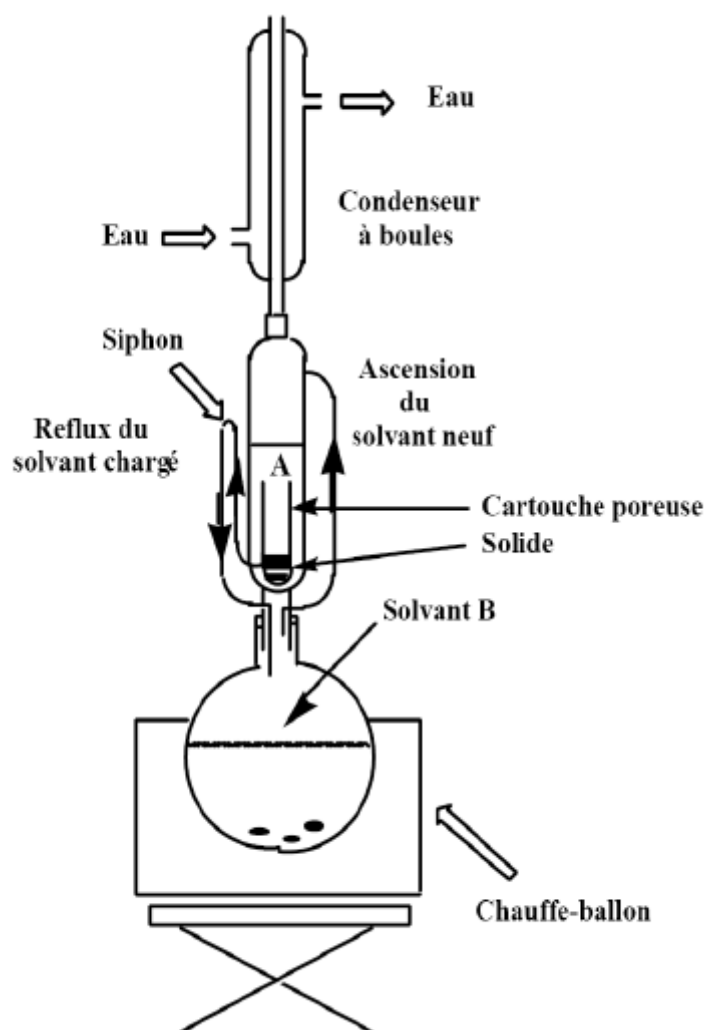


Figure 32 – Appareillage Soxhlet

Les matières premières (peau et pulpe de bananes Cavendish) ont tout d'abord été séchées, broyées, puis placées dans une cartouche poreuse. Cette matière solide a ensuite été mise en contact avec le solvant pur porté à ébullition, puis condensé grâce à un réfrigérant situé en haut de l'installation. Lorsque le solvant chargé en soluté atteint le niveau supérieur du siphon, le mélange est transvasé dans le ballon par différence de pression. Afin de travailler à basse température, le condenseur est connecté au vide. Plusieurs cycles d'extraction sont ainsi effectués, la durée de l'opération étant fixée quand on considère avoir atteint l'épuisement total en soluté du substrat solide. Les échantillons sont prélevés pour l'analyse en couche chromatographique mince. Le volume offert au solvant au contact du solide est de l'ordre de 100 ml.

## 1.2 - Etude de l'extrait brut

Dans un premier temps nous avons réalisé une étude afin de déterminer les conditions opératoires optimales. Pour cela, nous avons effectué un certain nombre d'expériences avec 50,0 g  $\pm$  0.3g de peau de bananes 900 dd à 70 bars (CO<sub>2</sub> liquide), 100 et 250 bars et à des températures comprises entre 20°C et 40°C. Les résultats sont présentés sous forme de masse extraite en fonction de la quantité de CO<sub>2</sub> utilisée en kg par kg du solide sans soluté. Les figures 1 et 2 présentent les masses respectives de l'extrait brut aux pressions de 70 bars, 100 bars et 250 bars à 20°C et 40°C. On constate que les masses totales d'extraction sont plus élevées pour les pressions 100 bars et 250 bars. La solubilité de l'extrait brut est plus grande à 100 bars à 40°C qu'à 20°C mais à 70 bars, la solubilité est plus élevée à 20°C qu'à 40°C.

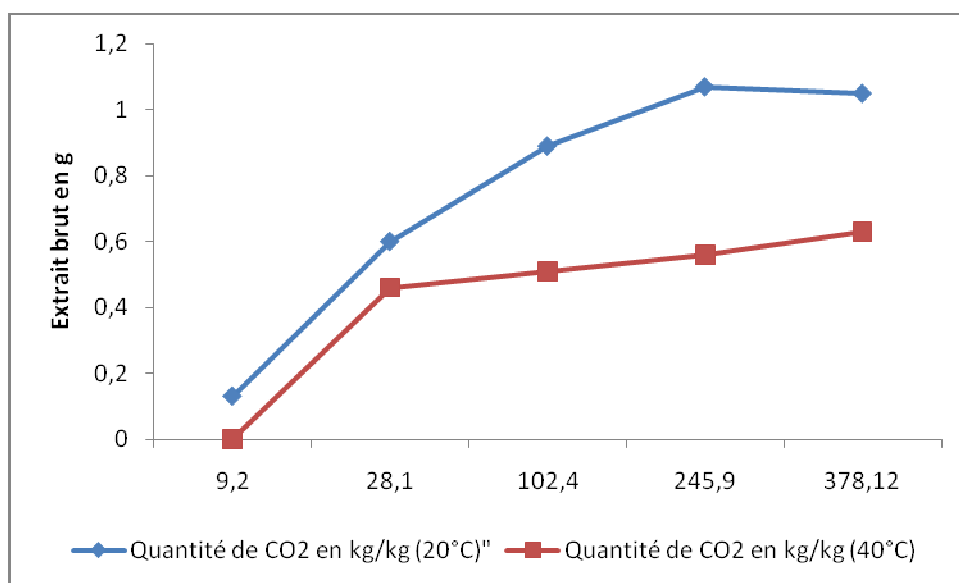


Figure 33 - Influence de la quantité de CO<sub>2</sub> (20°C – 40°C) sur l'extrait brut

### 1.2.1- Effet du conditionnement de la matière végétale

1.2.1.1 – Etude préliminaire des effets du conditionnement : frais, séché, congelé, lyophilisé

Une étude préliminaire a été réalisée afin de définir l'état du matériel végétal sur lequel nous souhaitons mener nos travaux. Cette étude a une double utilité car elle permet en effet, de quantifier les effets des traitements technologiques de stabilisation mais elle nous permet aussi de valider un process technologique qui nous permettra d'assurer une logistique d'approvisionnement en continu.

Les extraits ont été obtenus après broyage dans une solution Methanol/eau 50/50 (v/v), après agitation pendant 5 minutes et filtration sur papier Whatman. Les échantillons ont été plus ou moins concentrés à l'aide d'un évaporateur sous vide, à 40°C.

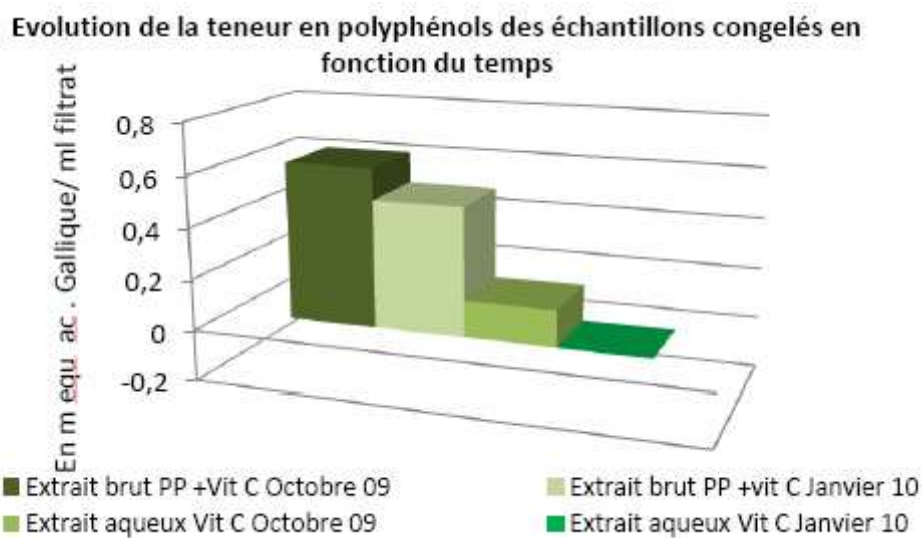


Figure 34 – Evolution de la teneur en polyphénols des échantillons congelés en fonction du temps.



## Effects on post-harvest treatment (freezing, drying, freeze-drying) on the total polyphenol content

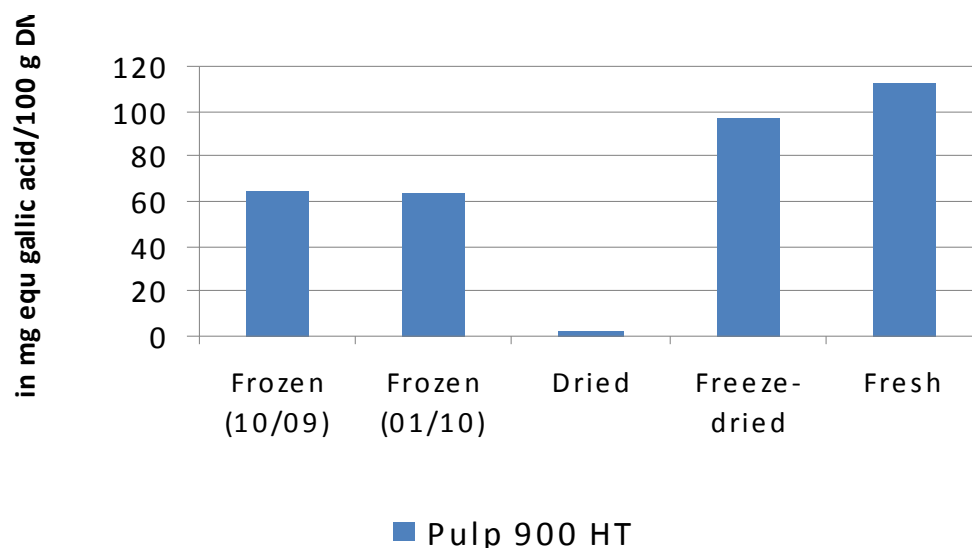
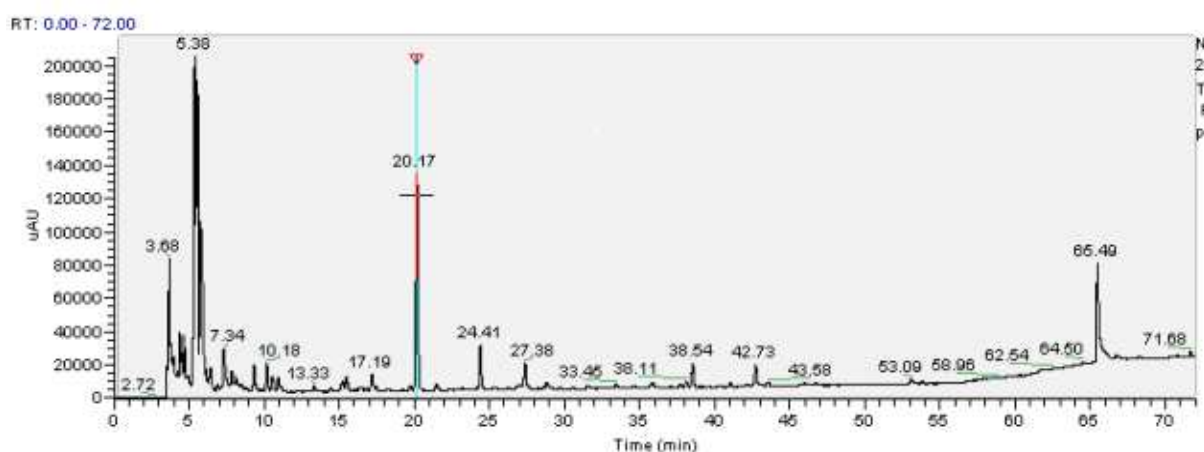
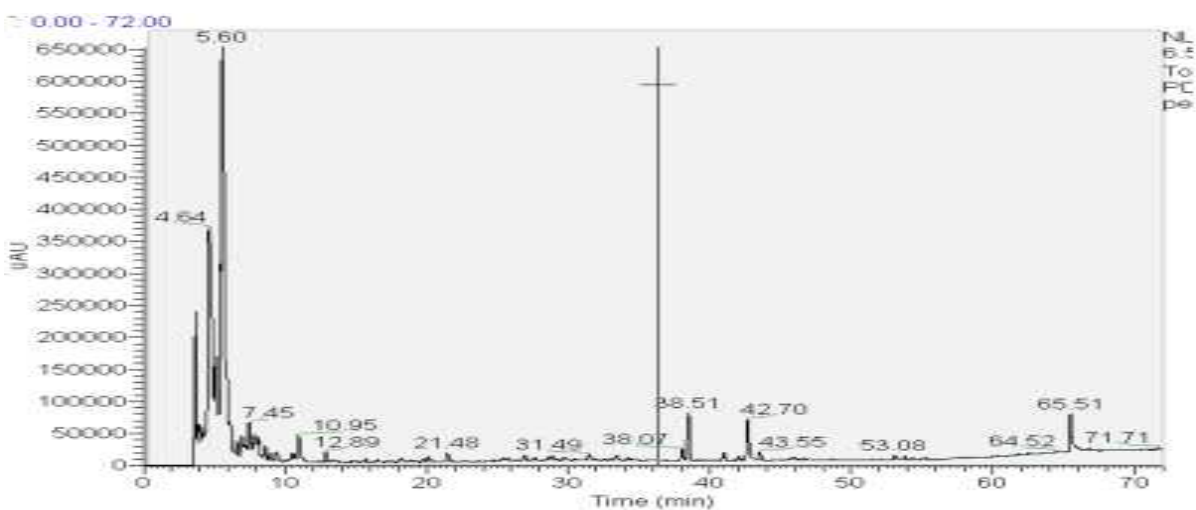
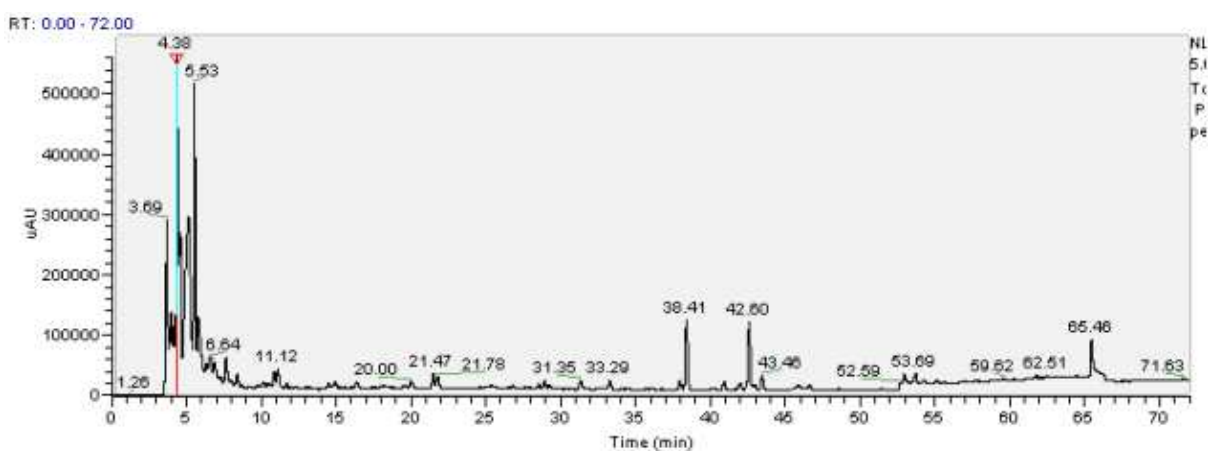
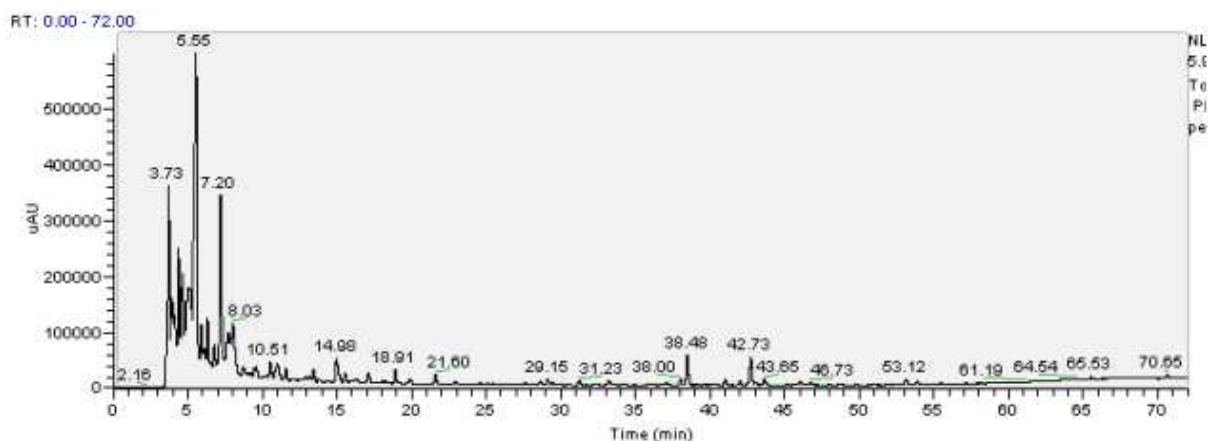


Figure 35 – Influence des traitements post récolte de conservation sur la teneur en polyphénols totaux.



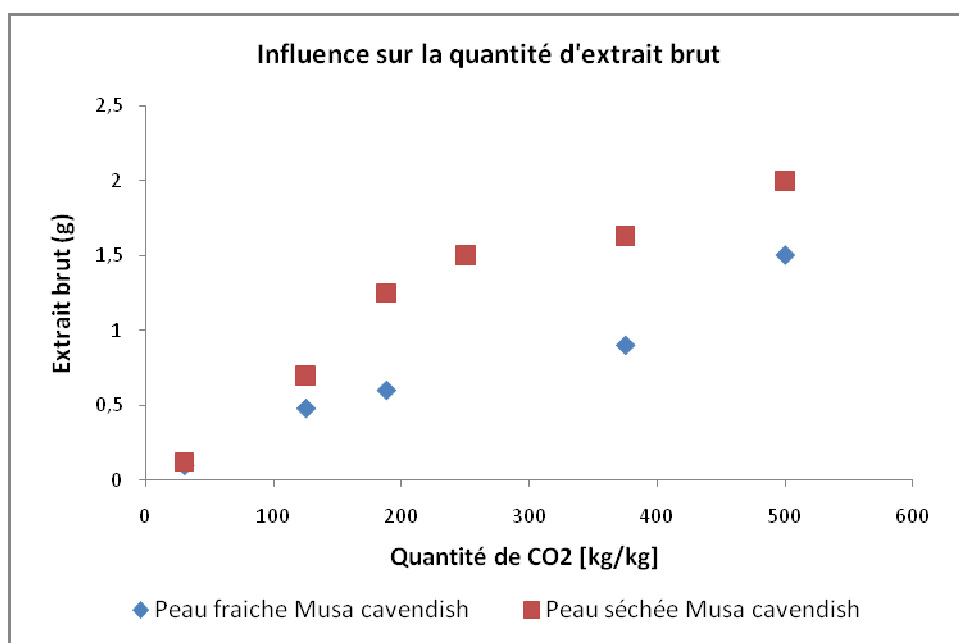


Figures 36 - De haut en bas : a/ Extraction dans du MeOH peau fraîche (c x 6); b/peau congelée à -20°C (c x 18); c/ peau séchée à 50°C (c x 50); d/ peau lyophilisée (c x 20)

### 1.2.2 – Effets de la taille des particules en extraction au CO2 supercritique

Pour étudier l'effet des différents conditionnements, nous avons réalisé une série d'expériences avec un poids équivalent de matière sèche (MS) pour le conditionnement frais et séché des bananes 900 dd. 40 g de poudre de peau séchée de bananes ayant une humidité relative HR égale à 9% et 320 g de peau fraîche (la peau de banane 900 dd contient 90% d'eau) ont été broyées à l'aide d'un broyeur à billes (Dangoumil 300A). Le conditionnement séché a permis d'obtenir un broyage beaucoup plus fin et homogène que celui pour le conditionnement frais. Les peaux fraîches de bananes ont été difficiles à broyer du fait de la présence de nombreuses fibres.

L'extraction a été réalisée à 40°C à 250 bar. Sur la figure, nous avons reporté la masse totale d'extract brut récupérée en fonction de la quantité de CO2 en kg par kg du solide sans soluté. Nous observons sur cette figure que la quantité d'extract brut pour la peau de banane séchée est supérieure à la quantité totale extraite pour la peau de banane fraîche. Ceci pourrait s'expliquer par une limitation interne du transfert de matière. L'eau est un facteur limitant à l'extraction, de même que les grosses particules.

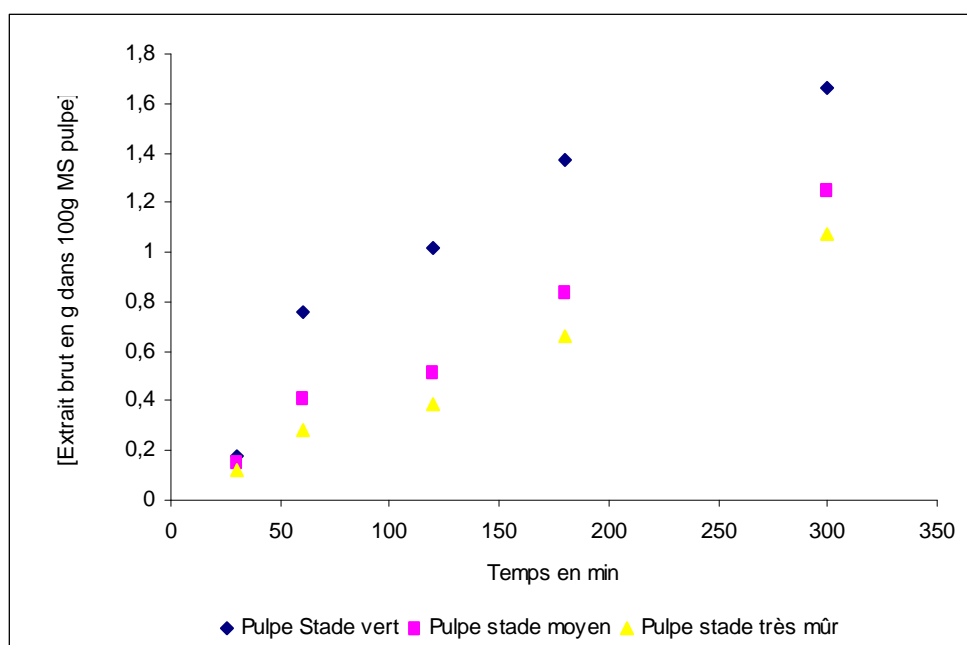


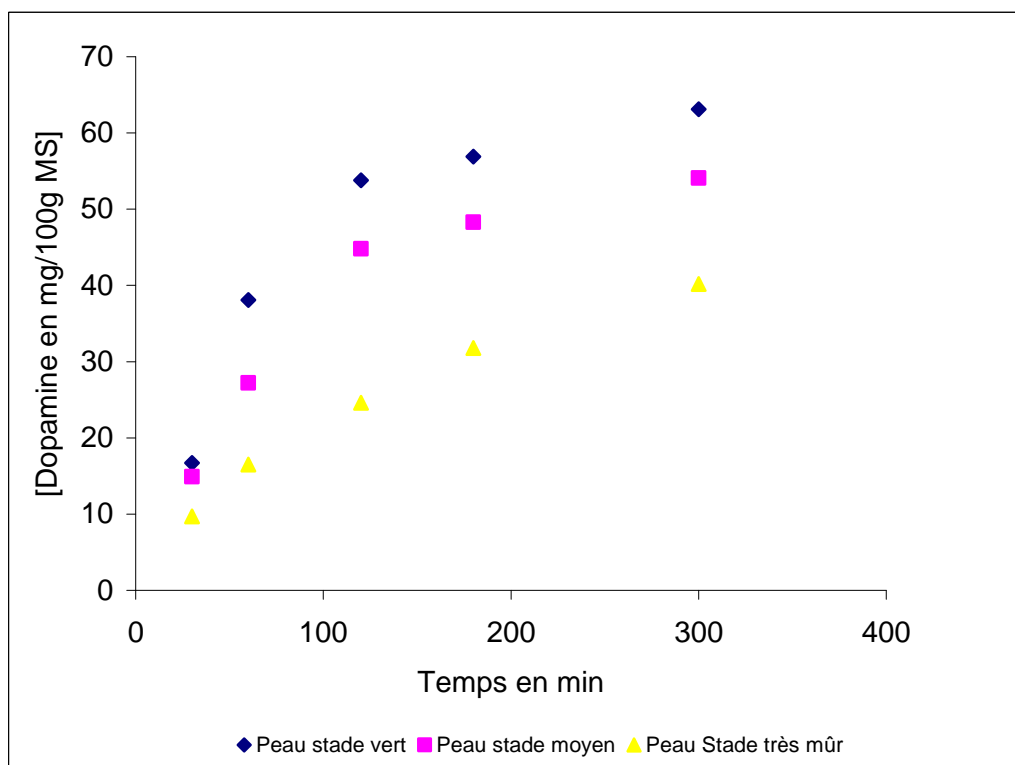
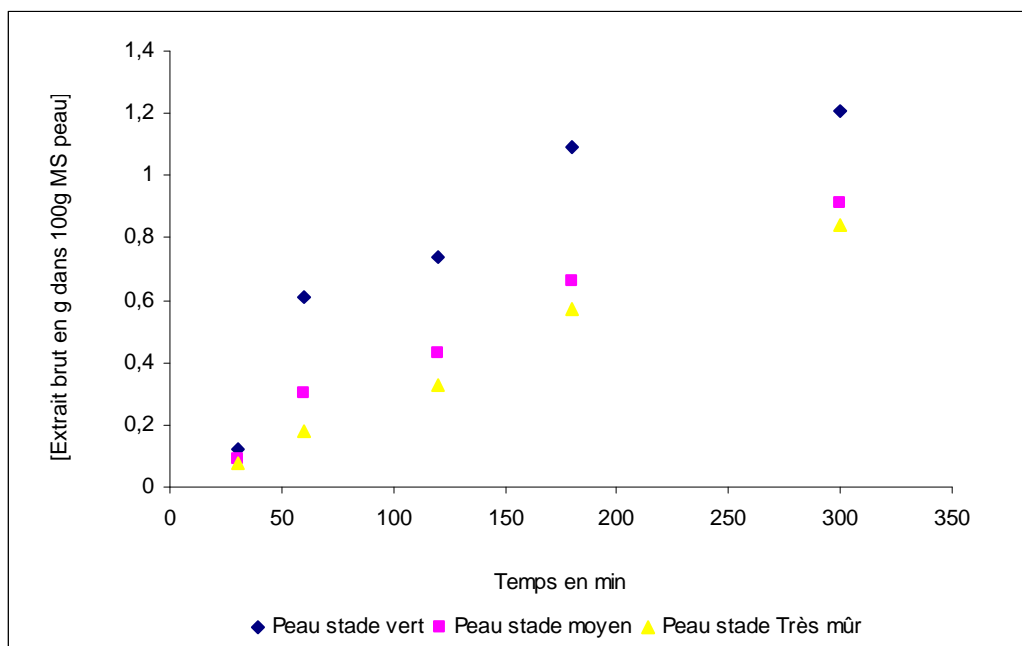
Figures 37 – Influence de l'eau et de la taille des particules (broyage) sur l'extraction au CO2 supercritique

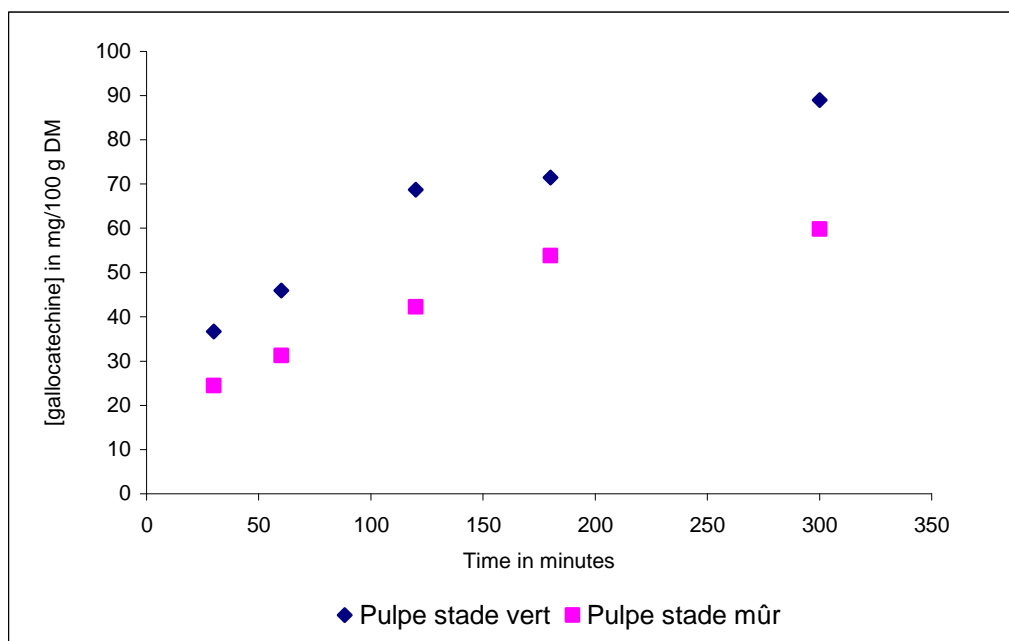
### 1.2.3 - Effets du mûrissement des fruits

Les peaux de bananes prises à différents stades de mûrissement (peau verte, jaune, jaune tigrée) ont été extraites à partir de CO<sub>2</sub> supercritique. Ces expériences ont été effectuées à 2250 bars et 40°C avec 23,5 +/- 0.3g de matière première séchée. Pour toutes les expériences, le débit de CO<sub>2</sub> a été de 3,16 kg/h. Les figures présentent les résultats des masses brutes extraites cumulées, des quantités de dopamine et gallocatéchine extraites cumulées.

Nous observons que les quantités cumulées d'extrait brut, de gallocatéchine et de dopamine sont plus élevées dans les fruits verts que dans les fruits très mûrs.







Figures 38, a, b, c et d (de haut en bas)- Effets du mûrissement des fruits et rendements quantitatifs de l'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

## 2 – La flash détente

### 2.1 – Matériels

#### 2.1.1– Descriptif du pilote de flash détente

Le pilote présent au sein de la Halle technologique du Cirad de Montpellier et utilisé dans le cadre de nos travaux fonctionne de manière discontinue. Il ne permet pas en raison du faible volume de la chambre de chauffe cylindrique (volume de 2,7 L, hauteur de 24 cm et diamètre de 12 cm) de traiter des quantités importantes de matériel végétal. La vapeur qui est injectée dans la chambre de chauffe en acier est générée par une chaudière. Les fruits étuvés sont alors brutalement introduits dans la chambre de détente d'un volume de 34 L (hauteur de 48 cm et diamètre de 30 cm) par l'intermédiaire d'une vanne pneumatique (temps d'ouverture de 0,5 secondes, pression d'ouverture 10 bars).

#### 2.1.2 – Préparation de la matière première

Les essais ont été menés à la fois sur bananes entières, pulpe et peaux de bananes Cavendish 900 degrés jours (index des couleurs en fonction de la peau : code couleur 1, Chen et al, 2002).



Photo 4 – Bananes French West Indies Cavendish (Capesterre Belle-eau, Guadeloupe)

	Couleur								
	Fruit entier			Peau			Poids en g avant FD		
	L	a*	b	L	a	b	Fruit	Peau	Pulpe
Lot 1 FD 143,5°C - 5min	48,6	-14,1	31,5	61,5	-16,6	33	249,6	82,8	159,2
Lot 2 FD 143,5°C–10 min	56,8	-16,3	31,5	59	-17,1	32,2	242,2	92,02	139,96
Lot 3 FD 143,5°C– 20min	55,5	-17,4	31,5	50,1	-16,8	31,5	236,6	83,39	126,10

Tableau 12 - Caractéristiques des bananes Cavendish – (FD : Flash détente)

Le vide a d’abord été réalisé dans la chambre de détente. Puis, le matériel végétal frais (peau : 82 – 92g ; pulpe : 125 à 160 g ; fruit entier : 235 – 250 g) a été placé dans l’enceinte de préchauffage. L’enceinte de préchauffage des fruits était balayée par un flux de vapeur à 143,5°C.

Les fruits ont séjourné dans la chambre de préchauffage pour des temps de 5, 10 ou 20 minutes.



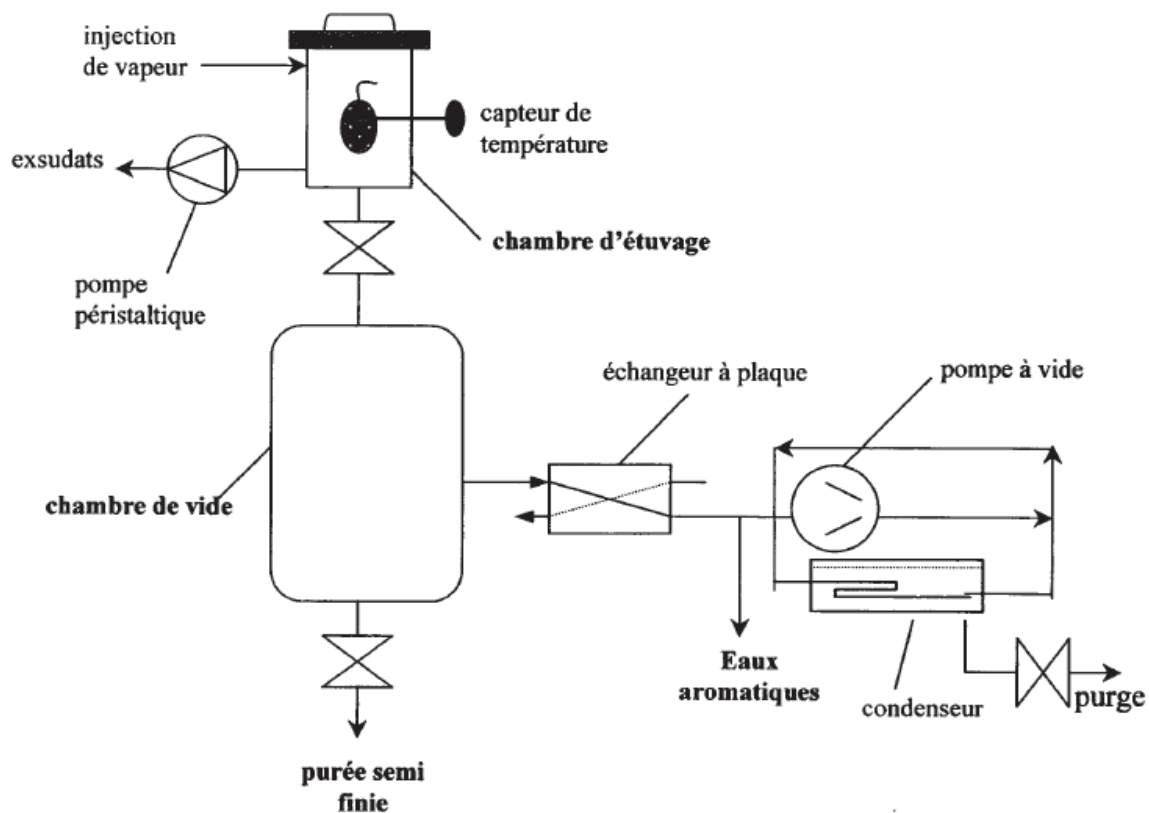


Figure 39 - Schéma du pilote de flash détente au Cirad Montpellier –UMR Qualisud

## 2.2- Extraction et libération des métabolites par flash détente FD

### 2.2.1 – Récupération des exsudats et broyats après Flash détente

Des essais préliminaires réalisés sur le pilote de flash détente ont montré qu'un temps inférieur à 2 minutes en chambre de préchauffage balayée par une vapeur d'eau à 135°C ne permettait pas d'obtenir un broyage fin du fruit dans l'étape ultérieure de détente (3 mbars).



Photos 5 (en haut) – FD menée sur banane Cavendish entière dans les conditions Etuvage ( $T^{\circ}= 95$  °C, 1 min), et détente 3 mbars

Photo 6 (en bas) – Flash détente menée sur banane Cavendish entière - Etuvage ( $T^{\circ}= 135$  °C, 2 min) et détente 3 mbars



Photos 7 (en haut) - Pulpe de banane Cavendish - Etuvage ( $T = 143.5^{\circ}\text{C}$ , 5 min), Flash détente 3 mbars.

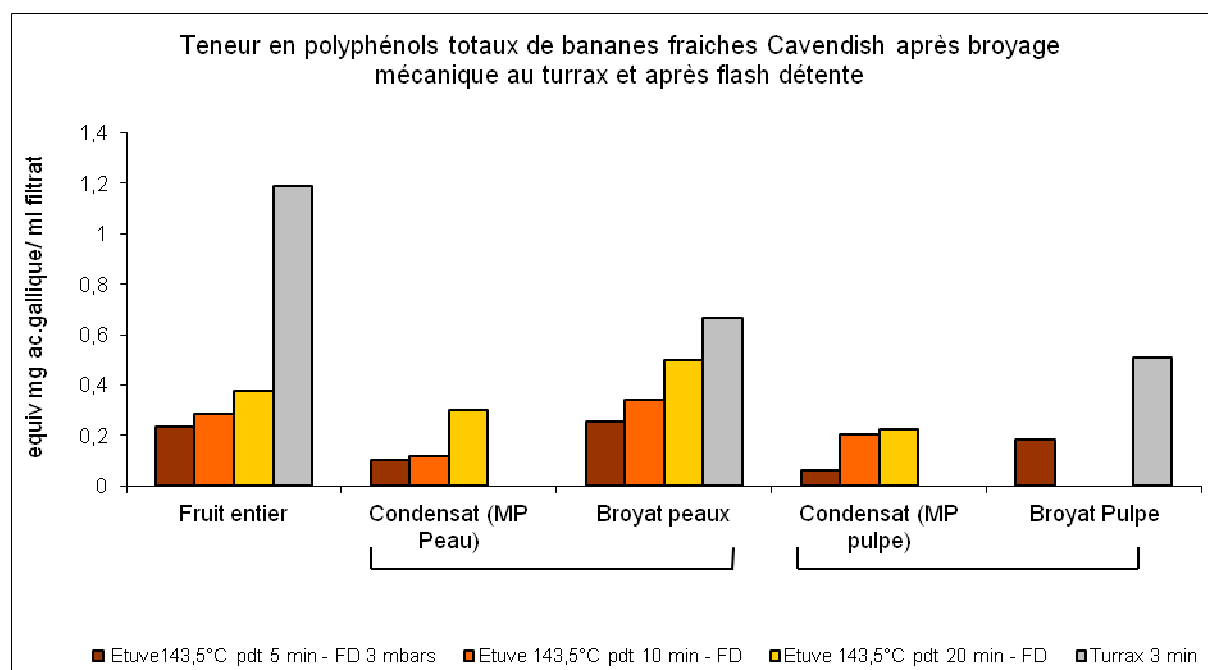
Photo 8 (en bas) - Peau de banane Cavendish- Etuvage ( $T = 143.5^{\circ}\text{C}$ , 5 min), Flash détente 3 mbars

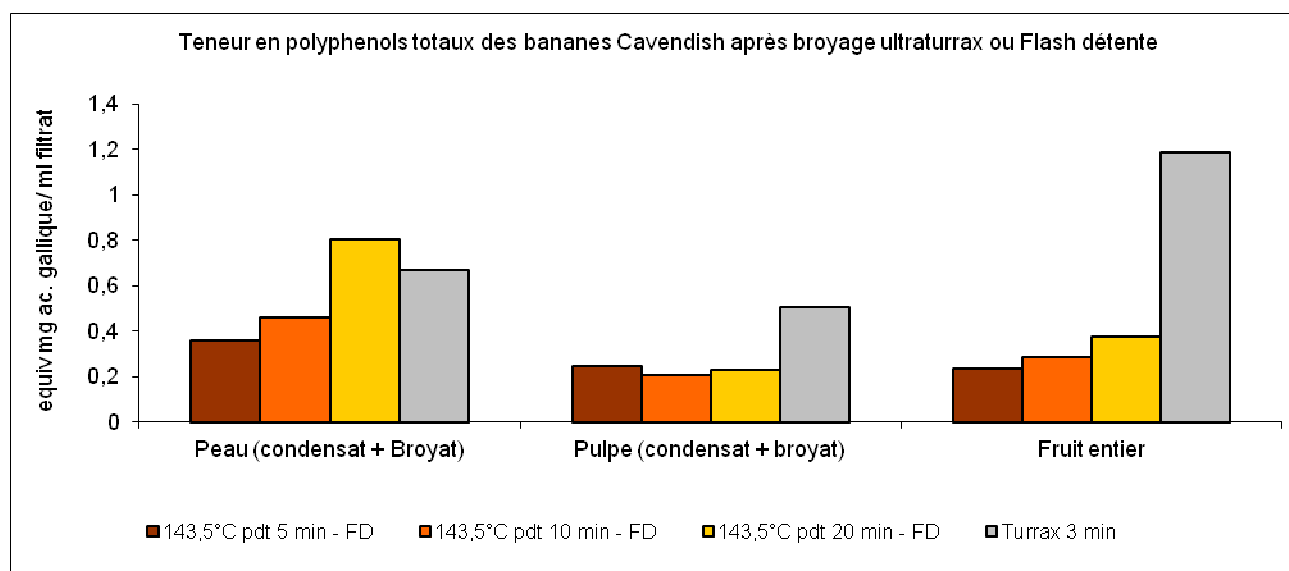


Photo 9 - Banane Cavendish entière - Etuvage ( $T = 143.5^{\circ}\text{C}$ , 20 min), Flash détente 3 mbars

### 2.2.2 - Dosage des polyphénols totaux et de la vitamine C par le réactif de Folin-ciocalteu

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 (Singleton et Rossi, 1965). Le réactif de Folin-ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). Dans le cadre de nos travaux, les polyphénols des bananes fraîches sont extraits par macération de 3g de broyat ou condensat obtenus par flash détente ou broyage mécanique à l'ultraturax de la peau, pulpe ou du fruit entier dans 7 ml d'acétone. Le mélange est agité pendant 10 min puis filtré sur papier Whatman. 25 µl de cet extrait brut additionné de 475 µl d'eau sont utilisés pour l'analyse des teneurs en polyphénols totaux et en vitamine C. 2,5 ml de réactif de folin dilué au 1/10<sup>ième</sup> sont ajoutés puis après 2 min, 2 ml de carbonate de sodium à la concentration de 75g/l sont également ajoutés. Un temps d'incubation de 15 min à 50°C est observé. La lecture d'absorbance est faite à 760 nm. La coloration produite, dont l'absorption est enregistrée à 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.





Figures 40 (en haut, sans cumul et en bas, avec cumul) – Teneurs en polyphénols totaux en fonction des paramètres de broyage à l’ultra-turrax ou flash détente

Les résultats obtenus montrent que plus le broyage préalable des tissus par la flash détente est fin, plus la libération/ extraction des polyphénols, après macération dans l’acétone est augmenté. Toutefois, il faut différencier les résultats obtenus sur pulpe ou fruit entier de ceux obtenus sur peau. En effet, dans le cas de la pulpe et du fruit entier (contenant tous deux de l’amidon), l’évaporation sous vide ou flash détente ne saurait être aussi efficace qu’un broyage mécanique à l’ultraturrax. En effet, on peut observer que la teneur en polyphénols totaux et en vitamine C obtenue suite à une flash détente de la pulpe ou du fruit est inférieure à celle obtenue suite à un broyage à l’ultraturrax, même après des temps de séjour en chambre de préchauffage de 20 minutes, 143,5°C. On peut également noter que les teneurs en polyphénols totaux et en vitamine C de la pulpe et du fruit entier n’augmentent pas significativement avec des temps de séjour en chambre de préchauffage plus longs, comme c’est le cas pour la peau. Une pulpe séjournant 5min dans la chambre d’étuvage, avec un courant de vapeur à 143,5°C présente des teneurs en polyphénols totaux et vitamine C supérieures à une pulpe qui y aurait séjourné 20 min. Ces manipulations démontrent qu’un séjour prolongé en chambre d’étuvage n’améliore pas les teneurs d’extraction de polyphénols totaux et vitamine C, en raison de la gélatinisation de l’amidon contenue dans la pulpe ou sur le fruit entier qui se produit. La gélatinisation se produisant pendant le procédé d’évaporation sous vide et en particulier, pendant l’étape d’étuvage, formerait un réseau gélifié qui inhiberait la libération des métabolites (polyphénols).

La flash détente est, par conséquent, un procédé qui semble bien convenir à des tissus non amylacés en raison de l'étape de préchauffage qui peut freiner la libération de métabolites du fait même de la formation d'un gel qui les retiendrait. C'est ainsi que les peaux de bananes, non amylacées, présentent des teneurs en polyphénols totaux et en vitamine C qui augmentent avec les temps de séjour (l'amidon n'étant pas présent dans ces tissus, n'est donc pas un facteur limitant). Ces teneurs enregistrées sur la peau sont également supérieures à celles obtenues après broyage à l'ultraturrax, pour 20 min à l'étuvage. En effet, la flash détente permettrait un broyage plus fin que celui obtenu avec l'ultraturrax où la présence de nombreux tissus fibreux est limitatif. Cependant, afin de pouvoir obtenir des teneurs équivalentes voire supérieures à celles enregistrées après broyage à l'ultraturrax, 3 min, 15 000 tours/ min, nous avons dû additionner les teneurs en polyphénols et vitamine C obtenues sur les condensats et sur les broyats. La flash détente permet une séparation (condensats/ broyats).

## **Chapitre 3- Evaluation qualitative des procédés sur les teneurs en molécules nutrifonctionnelles**

### **1 – Evaluation de l’activité cardio-vasculaire d’extraits de bananes Cavendish traités par FD**

Les travaux scientifiques portent sur la banane *Musa cavendish*.

L’objectif des recherches réalisées sur cette banane consiste à identifier les effets pharmacologiques de la poudre du fruit sur le système vasculaire.

Cette évaluation porte plus spécifiquement sur le type et le mécanisme d’impact sur la réactivité du tonus vasculaire en réponse à l’exposition à un totum du fruit.

#### **1.1 – Analyses physico-chimiques**

Les bananes entières 900 dd ont été traitées par flash détente afin de faciliter la préparation du totum. Des opérations de broyage et d’atomisation ont permis d’obtenir une poudre de banane dont la composition chimique a été analysée par TLC, méthode calorimétrique et mesure d’absorbance. Ces analyses préliminaires et précédemment présentées dans ce rapport ont permis de déterminer la composition générale des bananes en polyphénols, sucres simples et complexes.

Les résultats obtenus indiquent la présence de polyphénols dans la peau et la pulpe permettant d’envisager des explorations d’activités sur les tissus vivants. Les sucres complexes évoluent à la baisse avec augmentation concomitante des sucres simples, en fonction de l’âge des fruits, conformément aux résultats déjà décrits dans la littérature scientifique. Les résultats des dosages sont donc validés ce qui garantit et consolide l’intérêt de l’étude des effets biologiques potentiels.

#### **1.2 – Analyse des activités biologiques**

Les premières évaluations des activités biologiques de la banane ont porté sur le système vasculaire. L’effet propre de la banane a été évalué en comparant ses effets aux médiateurs endogènes vasoactifs conventionnels (noradrénaline et dopamine) sur l’aorte thoracique isolée de rat.

Le modèle utilise des rats mâles Wistar (Elevage Janvier-France) pesant entre 300g et 400g. Après euthanasie par exsanguination, l’aorte est rapidement prélevée et placée dans une solution Krebs dont la composition est la suivante (mmol/l) : NaCl 118, KCl 4.8, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5, NaHCO<sub>3</sub> 25 et Glucose 11. L’aorte est débarrassée du tissu adipeux et conjonctif afin de

préparer des fragments de 4mm de long en vue du montage sur les portes organes. Les fragments sont ensuite placés sur des portes organes et disposés dans des cuves à organes isolés (Emka) de 6 ou 12ml contenant le milieu physiologique (Kreb's) qui est maintenu à une température de 37°C, oxygéné par un mélange O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, (95%/5%) et dont le pH est à 7,4. Pour le montage des fragments d'aorte, la partie inférieure du porte organe est immobilisée dans la cuve à organe isolé et la partie supérieure est reliée à un capteur de tension isométrique. Le signal fourni par le capteur est analysé par le système informatique Emka Iox.

Pour caractériser l'effet propre du totum de banane, au début de chaque expérimentation, les fragments d'aorte sont soumis à une tension de base de 1g. Après le montage des fragments, une période d'équilibration de 60 minutes est observée, période durant laquelle des lavages sont effectués toutes les 15 minutes. A la suite de ceci, il s'en suit une caractérisation de l'endothélium en additionnant de la noradrénaline (10<sup>-7</sup>M) pour contracter les anneaux aortique puis en additionnant de l'acétylcholine (10<sup>-5</sup>M) pour observer s'il y a ou non une relaxation. Après la caractérisation de l'endothélium, un temps d'équilibration de 60 minutes est observé avec des lavages toutes les 15 minutes. Ensuite, les produits à tester sont ajoutés dans la cuve en concentrations cumulées.

Courbe dose réponse du totum, pour endothélium+ : 0.001mg/ml à 10mg/ml, incrément de dose 0.5 log<sub>10</sub> et pour endothélium- : 0.0001mg/ml à 1mg/ml, incrément de dose 0.5 log<sub>10</sub>.

Courbe dose réponse de la dopamine, pour endothélium+ : 10<sup>-9</sup>M à 10<sup>-2</sup>M, incrément de dose 0.5 log<sub>10</sub> et pour endothélium- : 10<sup>-9</sup>M à 3.10<sup>-4</sup>M, incrément de dose 0.5 log<sub>10</sub>.

Courbe dose réponse de la noradrénaline, pour endothélium+ : 10<sup>-9</sup>M à 3.10<sup>-5</sup>M, incrément de dose 0.5 log<sub>10</sub> et pour endothélium- : 10<sup>-10</sup>M à 10<sup>-5</sup>M, incrément de dose 0.5 log<sub>10</sub>.

Dans cette deuxième partie de l'étude, nous nous sommes intéressés à étudier le rôle des récepteurs  $\alpha_1$  adrénergiques dans l'effet contracturant du totum de banane. Pour cela, nous avons considéré la prazosine qui est un antagoniste sélectif des récepteurs  $\alpha_1$ . Après avoir évalué l'effet du totum, les fragments d'aorte sont soumis à une période d'équilibration supplémentaire de 60 minutes durant laquelle des lavages sont effectués toutes les 15 minutes avec du tampon Kreb's. Après cette période d'équilibration, la prazosine (10<sup>-8</sup>M et 10<sup>-9</sup>M) est ajouté dans les cuves avant l'administration du totum en concentrations cumulées. Les concentrations testées sont les mêmes que celle considérées dans la première partie de l'étude.

Le totum de banane est obtenu à partir de bananes de la variété Musa Cavendish (CIRAD, UMR Qualisud). Le totum ainsi que l'acétylcholine, la prazosine, la dopamine et la noradrénaline sont mises en solution dans de l'eau distillée (réactifs Sigma, France).



Le totum de banane démontre un effet contracturant dose dépendant sur l'aorte. Les composés de référence (noradrénaline et dopamine) génèrent des profils similaires mais pour des concentrations plus faibles. Ceci signifie que la banane possède une activité moins puissante que les molécules de référence, mais néanmoins significative. Ces résultats sont obtenus aussi bien en présence qu'en absence d'endothélium. Dans les mêmes conditions nous avons démontré que la prazosine modifie l'effet contracturant de la banane en l'inhibant de manière compétitive. Cela signifie que le récepteur alpha-1 adrénergique vasculaire joue un rôle dans les effets vasoconstricteurs de la banane. Des études concernant la caractérisation de *Musa cavendish* ont mis en évidence des concentrations de dopamine, médiateur vasoactif, en fonction des stades physiologiques. Des études complémentaires doivent être réalisées afin de caractériser plus spécifiquement la cible moléculaire impliquée dans l'action pharmacologique de l'extrait de banane et plus particulièrement des vasoactifs présents au sein de la banane. Elles permettront également d'identifier le rôle relatif de la teneur en dopamine, et d'autres composés potentiels, dans les effets vasculaires de ce fruit. Sur cette base l'intérêt santé de la banane, au niveau vasculaire, pourra être mis en évidence.

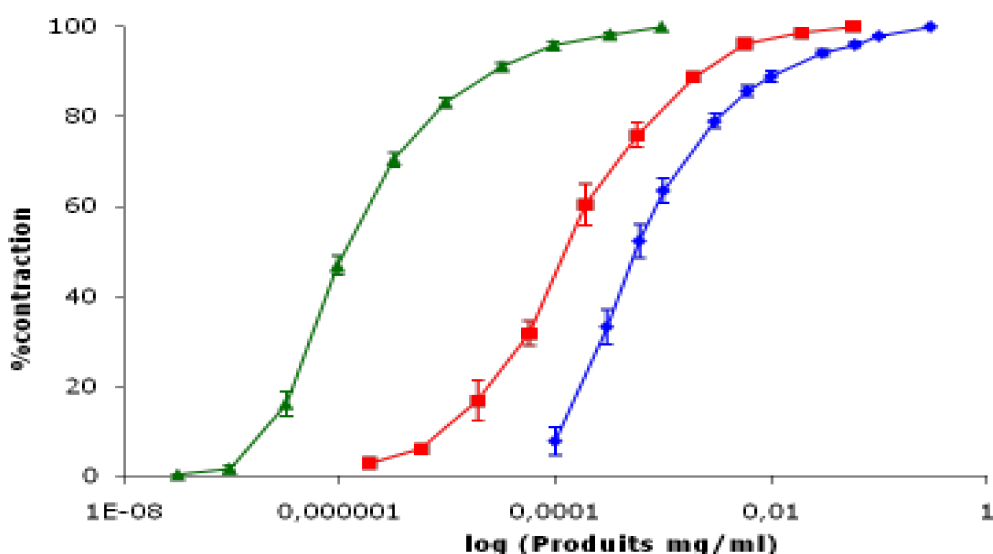


Figure 1 : Aorte thoracique isolée de rat. Contractions induites par le totum de banane (■), la dopamine (●), et la noradrénaline (◆) en absence d'endothélium.

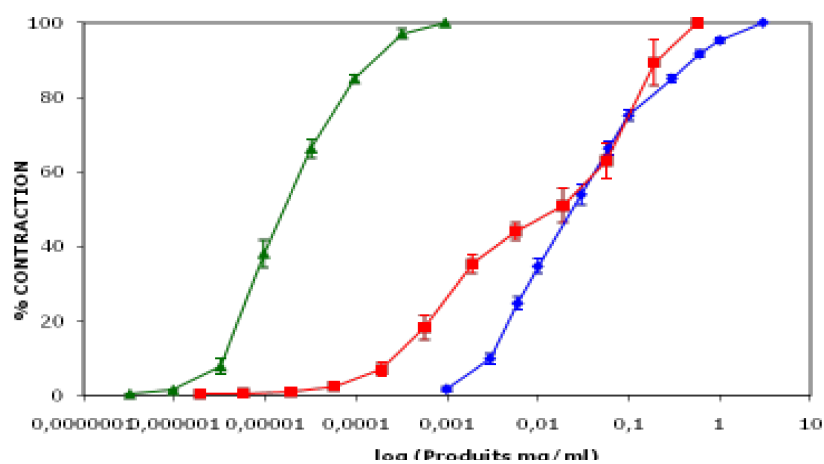


Figure 2 : Aorte thoracique isolée de rat. Contractions induites par le totum de banane (■), la dopamine(●), et la noradrénaline (◆) en présence d'endothélium.

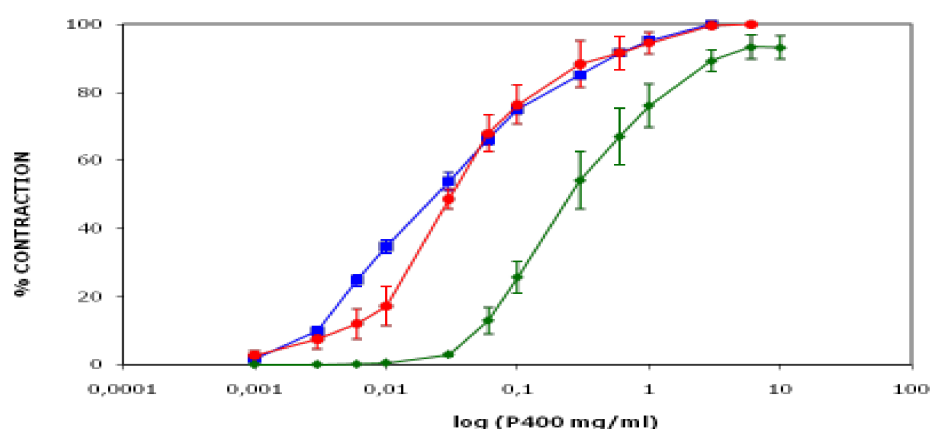


Figure 3 : Aorte thoracique isolée de rat. Effet contracturant du totum de banane (■) en absence et en présence de prazosine à  $10^{-8}$ M (◆) et  $10^{-9}$ M (●), sans endothélium.

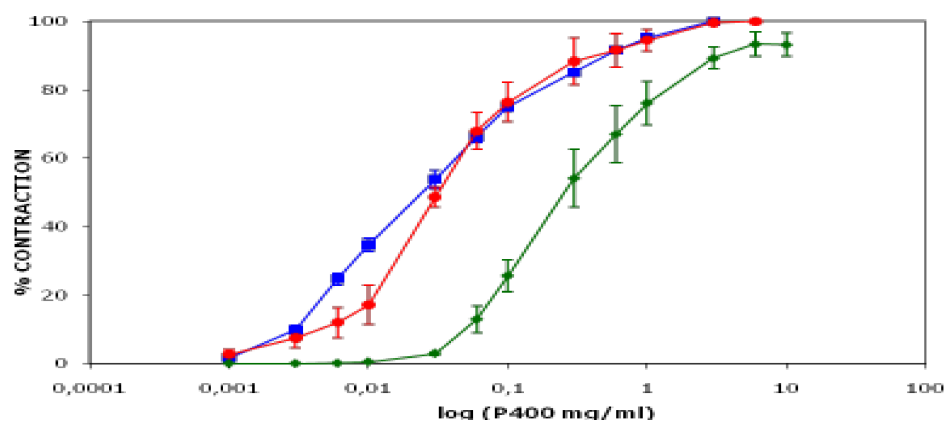


Figure 4 : Aorte thoracique isolée de rat. Effet contracturant de l'extrait de P400 (■) en absence et en présence de prazosine à  $10^{-8}\text{M}$  (▴) et  $10^{-9}\text{M}$  (●), avec endothélium.

### 1.3- Conclusion

Ces travaux réalisés permettent de définir les effets pharmacologiques et santé de la banane notamment au niveau vasculaire. Des investigations complémentaires ayant pour but : (1) de mieux comprendre les mécanismes d'action des actifs de la banane sur les systèmes vivants, (2) de corréler ces activités avec des molécules spécifiques contenues dans le fruit sont à mener. Ces investigations permettent d'explorer les effets santé de la banane en particulier dans des conditions de pathologies afin de démontrer l'intérêt que recèle ce fruit pour la santé humaine tant sur le plan alimentaire que pharmaceutique.

## **2- Evaluation de l'activité anti-ulcère sur bananes Cavendish FWI et en fonction des stades physiologiques de récolte et du procédé d'extraction (soxhlet, macération).**

Effects of Cavendish banana extracts on *Helicobacter pylori* growth and ulcer

Christelle BRUNO BONNET<sup>1\*</sup>, Patrick POUCHERET<sup>2</sup>, Dominique PALLET<sup>3</sup>, Didier MBEGUIE<sup>4</sup> and Abel HIOL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Antilles Guyane – Site de Saint-Claude IUT - 1 rue des officiers - 97120 Saint-Claude - Guadeloupe (FWI).

<sup>2</sup> Faculté de pharmacie de Montpellier UM1- 15 avenue Charles Flahault - BP14491 – 34093 Montpellier cedex 5 (France)

<sup>3</sup> CIRAD, UMR Qualisud, 73 rue Jean-François Breton - TA B 95/16 - 34398 Montpellier Cedex 5 (France)

<sup>4</sup> CIRAD, UMR Qualisud, Station de Neufchâteau - Sainte-Marie - 97130 Capesterre-Belle-Eau – Guadeloupe (FWI)

\* Corresponding author: Christelle BRUNO- BONNET, Université Antilles Guyane – Site de Saint-Claude IUT - 1 rue des officiers - 97120 Saint-Claude, Guadeloupe (FWI). Email : [christelle.bruno@etu.univ-ag.fr](mailto:christelle.bruno@etu.univ-ag.fr); Tel : +33(0)6 61 86 65 09 ; Fax : +33 (0)9 50 72 68 01.

## Abstract

Cavendish bananas extracts were investigated here for their effects on *Helicobacter pylori* growth. The polar and apolar fractions were extracted both from the pulp and peel of Cavendish bananas, harvested at three different physiological ages. Therefore the bananas preparations were tested for their antiulcerogenic effect on *H. pylori* colonization known as one of the main factors in the pathogenesis in gastric ulcers. After incubation at varied concentrations for 48 H at 37°C no significant inhibition effect was observed. However the banana extracts from pulps showed high content of polyphenols while the peel exhibited high level of dopamine as well as sitoindosides. Together our results showed the Cavendish banana may displayed antioxidant activity for the anti ulcer.

In this study, it appeared that Cavendish bananas extracts, both from the peel and pulp may not have inhibition effect on *H. Pylori* growth. Protective gastric mucosa due to antioxidant activity may be the only mode of action in anti-ulcerogenic properties.

**Keywords :** Banana, Anti-ulcer, *Helicobacter pylori*, Antioxidant and Sitoindosides

## 1 – Introduction

Bananas intakes have been traditionally recommended for treatment/prevention in digestive disorders such as gastric ulcers. Although gastric ulcers appear due to various factors (Mc Guigan 1991), the etiology of gastric ulcer is still debated but it is accepted that ulcers are caused due to net imbalances in mucosal offensive and defensive factors (Goel and Bhattacharya, 1991). Ulcer therapy is now mainly focused on limiting deleterious effects of offensive acid secretion. However, the search for new safer alternative drugs has aroused an interest in natural cytoprotective drugs or/and natural inhibitive *Helicobacter pylori* growth ingredients.

The pulp and peel of unripe, raw plantain bananas have been showed to possess cytoprotective activity ( Chattopadhyay et al, 1987; Goel et al, 1989; Dunjic et al, 1993; Rao et al, 2000, Sairam et al, 2001). Additionally the banana pulp protects the gastric mucosa from damaging agents by neutralising intragastric acidity ( Beil et al, 1995). Lewis et al, 1999 demonstrated that leucocyanidin contained in the pulp of bananas, was able to exert the greatest protective effect against aspirin-induced mucosal damage. This work indicated that the leucocyanidin, present in unripe plantain banana may be responsible for anti ulcerogenic properties. This group of compounds has been determined to reduce acid secretion from gastric parietal cells (Lewis et al, 1999) and is mainly present in banana pulp.

Some phytosterols as Sitoindoside-IV, I and II, isolated from *Musa paradisiaca* peel have also demonstrated mobilization and activation of peritoneal macrophages which may play a role in the anti-ulcerogenic (Ghosal and Saini, 1984; Chattopadhyay et al, 1987).

Wound healing and gastric mucosal resistance manifest the anti-ulcerogenic effect of sitoindosides (I, II, IV) present in banana peel (Ghosal and Saini, 1984; Ghosal, 1985, Bhattacharya et al, 1987; Oliveira et al, 2005; Oliveira et al, 2007).

Different physiological harvest stages, previously defined for temperature sum accumulation equal to 900°C, 600°C and 400°C (banana 900 degree day, banana 600 degree day and banana 400 degree day), (Chillet; Hubert, 2006) have been investigated since it is known that the content of active compounds evolves with the fruit development (Chillet; Hubert, 2006).

Although polyphenols and phytosterols, particularly flavonoids and sitoindosides, from plantain bananas, have already demonstrated anti-ulcerogenic properties by protecting the gastric mucosa for acid secretion (Lewis et al, 1999) or through their activation of peritoneal macrophages (Chattopadhyay, 1987), no studies have investigated if polar compounds such as polyphenols extracted from the peel, or apolar compounds extracted from the pulp, have any impact on *Helicobacter pylori* growth.

Studies have indicated bananas' protective and healing activities upon ulcers through the predominant effect on various mucosal defensive factors. However, we don't have any knowledge about the effect of unripe banana pulp and, in particular, the effect of apolar compounds present in pulp on *Helicobacter pylori* development. In the same way, there are no reports about the effect of polar compounds from peels, particularly polyphenols such as dopamine, on *H. pylori* colonization. Polyphenols such as dopamine are very present in banana peels (Simmonds, 1954; Kanazawa et al, 2000; Somaya et al, 2002).

Consequently, there are only partial investigations of anti-ulcerogenic activities from bananas (mainly plantain bananas). No reports have studied yet, at individual physiological ages, the effects of both polar and apolar fractions from both unripe banana peel and pulp, on *Helicobacter pylori* growth. Apolar compounds such as sterols are widely distributed in banana peels (Ghosal, 1985; Oliveira et al, 2005; Oliveira et al, 2007). A few studies have demonstrated their role in gastric ulcers induced by oxidative stress (Chattopadhyay et al, 1987; Goel et al, 2001) but there are no reports of anti-ulcerogenic activities for the polar/apolar fractions of banana peels. Investigations of anti-ulcerogenic activities are partial and incomplete for each fraction (polar, apolar) and each physiological stages.

As oxidative stress and *Helicobacter pylori* colonization are considered to be important factors in the pathogenesis of gastric ulcers, the objective of this paper is to know for each totum and fractions (polar and apolar) extracted from banana peels/ pulp, if the mode of action for antiulcerogenic activities is also due to inhibition of the *H. pylori* colonization or if it is only due to antioxidant protective mucosa activities.

## 2 – Materials and methods

### 2.1- *Helicobacter pylori* strain

Prior to the experiment, working cultures were prepared by subculturing. The strain of *Helicobacter pylori* CIP 103995 (Pasteur institute, France) was cultured on Columbia agar supplemented with 10% horse blood and incubated at 37°C under microaerophilic conditions, for a duration of 48 hours. Inocula containing culture in the exponential growth phase of approximately  $1.4 \times 10^3$  /ml was used for the experiment. The polar fractions were diluted in peptone at 0.1% (w/v) whereas the apolar fractions were solubilized in hexane.

A preliminary work based on hexane and *Helicobacter pylori* determined the maximum tolerated concentration. The volume of 10µl used for the experiment has no effect on *H. pylori* growth (optimization).

### 2.2 – Banana samples

For all experiments, the Musa Cavendish bananas were harvested in October from CIRAD Neufchâteau station, at Sainte Marie, Capesterre-Belle-Eau, Guadeloupe, French west indies (FWI). The bananas came from the same soil-zone. We selected three physiological harvest ages: 900, 600 and 400 degree day *as previously described* Chillet and Hubert, 2006. The unripe green Cavendish bananas were peeled. The peels and the pulps were freeze-dried and powdered. The banana powder was considered as totum. For some experiments the bananas extracts were sterilized.

#### 2.2.1 – Preparation of sterile / unsterile material.

The totum extract from peels or pulps was either solubilized in sterile peptone water at 0,1% (w/v) or hexane at different dilutions including 0, 0.32, 1.6, 8, 40, 200,  $1 \times 10^3$ ,  $12,5 \times 10^3$ ,  $25 \times 10^3$ ,  $50 \times 10^3$  and  $100 \times 10^3$  µg/ml.

2.2.2 – Extraction of the polar and apolar active compounds from pulps and peels by Soxhlet and maceration.

Hexane and acetone were used to extract respectively apolar and polar active compounds from freeze-dried banana pulp/peel. The Soxhlet extractions lasted 6 hours, at 120°C. The solvents were evaporated at 35°C .

For each physiological harvest stage (900, 600 and 400 degree day), two Soxhlet extractions were conducted in order to produce two extracts: Extract A (polar) and Extract B (apolar).

Unsterile freeze-dried banana pulp/peel was also extracted with hexane and acetone by maceration for 6 hours (no heating process).

2.2.3 – Separation and identification of sterylglucosides by Thin Layer Chromatographic method (TLC)



The B extract was separated on TLC plates coated with a 1 mm layer of silica gel 60 F254 (E. Merck). The mobile phase was composed of Toluene – Ethyl acetate at 2.0: 1.0 (v/v) as previously described.

Briefly, a sensitive and accurate high-performance thin layer chromatographic method was performed for the quantification of sterylglucosides.. Ten grams of freeze-dried Cavendish banana powder was extracted with hexane. Sterylglucosides standards (E. Sigma) and sample solutions were applied to the plates as 6 mm from each other. The plate was developed to a distance of 80 mm from the bottom edge of the plates, with Toluene – Ethyl acetate 2.0: 1.0 (v/v), in a Camag glass twin-through chamber, previously equilibrated with mobile phase for 5 min.

Detection was performed with ferric chloride vapor at 105°C, after 5 min, on one part of the plate. and the other part of the plate was used to extract glucosylated sterols that were solubilized in diethyl ether.

A TLC interface CAMAG was used to identify the sterylglucosides and particularly, sitosterols (Sitosterol IV). The infusion solvent was Chloroform- Methanol – Water – Formic acid 85: 41: 1: 0.1 (v/v). Dilutions of polar and apolar extracts of Cavendish banana pulp Using sterile peptone water at 0,1% wt/vol or hexane, dilutions of 0, 0.32, 1.6, 8, 40, 200, 1000 µg/ml and 12.5, 25, 50, 100 mg/ml of sterile or unsterile banana pulp powder were prepared to obtain respectively polar or apolar solutions.

### 2.3 – Methodology of microbial culture

50 µl of each diluted culture of *H. pylori* was individually spread on the surface of the solidified Columbia agar supplemented horse blood plates and then incubated at 37°C for 1h. After 1 hour of incubation, 11 wells were made in the inoculated plates. Petri plates were again incubated for 1 h.

Then, the wells were filled with 10µl of various concentrations of the sterile/unsterile banana pulp/peel, solutions of each physiological age.

The positive control consisted of Columbia agar supplemented with horse blood plates without banana extracts inoculated with the diluted medium culture. Uninoculated plates containing banana extracts solutions served as negative control. Test and control plates were then incubated at 37°C for 48H. The absence of colonies was considered as an inhibitory effect. This experiment was triplicated.

### 3 – Results and discussions

#### 3.1 - Identification of sterylglucosides

Sterylglucosides were separated by TLC and presented a purple color after detection. HPLC- MS analysis showed the presence of sitosterols in the sterylglucosides fraction (*Figures 3 and 4*).

#### 3.2 - Detection of inhibitory activity

*Helicobacter pylori* colonization and oxidative stress are the main etiologic factors in the pathogenesis of gastric ulcers. It is well-known that polyphenols are the most abundant antioxidants and are able to fight oxidative stress (Somaya, 2000; Scalbert et al, 2002). Polyphenols extracted from bananas, both from the pulp and peel (flavonoides, catechines from the pulp, catecholamines such as dopamine from the peel), may have an impact on the protection of the gastric mucosa through their antioxidant activity. Indeed, polyphenols such as flavonoids have been shown to stimulate the proliferation of parietal cells and to neutralize acid secretion (Beil et al, 1995). This study shows that polar compounds such as polyphenols may not have an inhibitory effect on *Helicobacter pylori* growth (*table 1*).

Since dopamine is a polyphenol widely distributed in the peel (Kanazawa et al, 2000), it may also have no impact on *H. pylori* growth. We may conclude that polyphenols, both distributed in peel and pulp may play a role in antiulcerogenic properties only due to their antioxidant capabilities (protective and scavenging of free radicals) (Scalbert et al, 2002).

Sterols and other classes of sterols (in particular sterylglucosides and sitosterols), apolar active compounds, are mainly present in the peel. Apolar extracts from the peel and pulp (sterylglucosides and in particular, sitosterols) also showed no inhibitory activity on *Helicobacter pylori* growth, at each physiological ages (*table 2*).

Consequently, the mechanism of antiulcerogenic properties may only result from a cytoprotective action by neutralizing acid secretion or by multiplying parietal cells. Although banana extracts inhibit the growth of food poisoning bacteria in vivo such as *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* (Mokbel et al, 2005), they don't inhibit the development of *Helicobacter pylori*.

Banana powders (totum) and extracts (oils, sterylglucosides) showed no significant inhibition of *H. pylori*, in vitro. Hence *H. pylori* activity may not be involved in the ulcer protective effects of banana extracts. Thus, this present study indicates the absence of anti-*Helicobacter pylori* activity of polar and apolar banana peel and pulp extracts, in vitro. Since it has been shown that heating can denature molecules and influence biological activities, we sterilized or unsterilized the samples,

extractions were also done by heating or at room temperature. No significant differences have been recorded in the inhibitory effect of polar and apolar banana extracts on *H. pylori* growth.

#### 4 – Conclusion

The present study revealed there may have no impact of polyphenols (catecholamines and flavonoids) and sterylglucosides (sitosterols) extracted both from the pulp and peel of FWI Cavendish bananas on *Helicobacter pylori* growth. The antioxidant activity appears to be only involved in its ulcerprotective effect.

These findings are in agreement with previous and partial studies (Goel et al, 2001). Indeed, Goel et al, 2001, studied the effect of polar methanolic extract of plantain banana pulp by using a 96 well plate technique (liquid medium culture). In this study, we used Columbia agar Petri plates (solid medium culture) in order to know the effect of polar and apolar extracts of Cavendish banana pulp and peel, at three different physiological stages on *Helicobacter pylori* colonization.

## FIGURES



Figure 1 - Cavendish bananas: 900 – 600 and 400 degree day stages

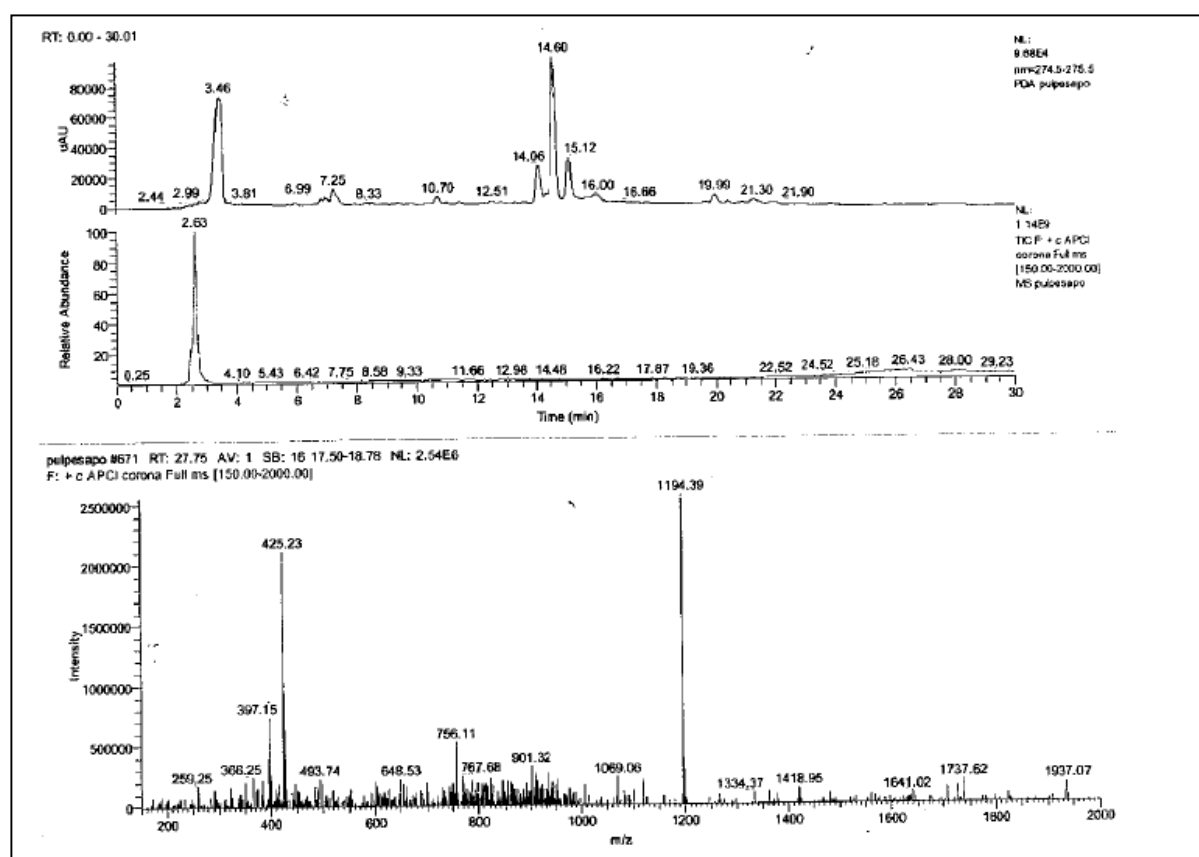


Figure 2 – Analysis of steryl glycosides fractions by TLC-MS. Saponification with sodium methyolate 2M and Methanol- trifluoroacetic acid 99,5: 0,5; v/v); Mw (stigmasterol) : 397.

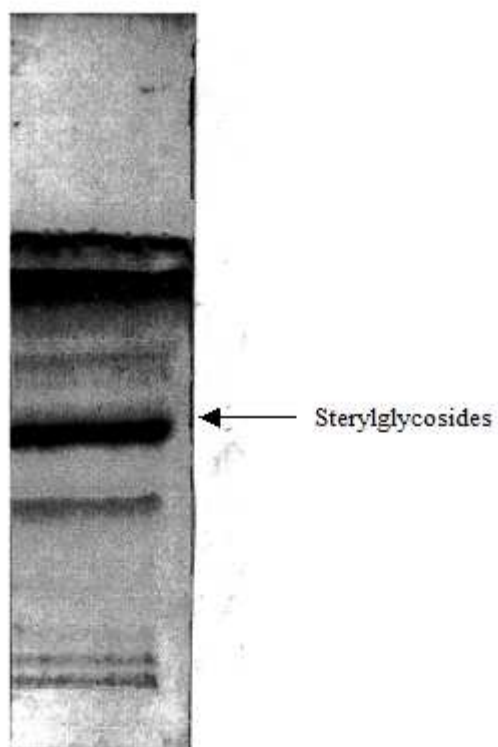


Figure 3 – Detection by TLC of a sterylglycoside solution

Sample concentrations in µg/ml		0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Pulp (400 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized polar Banana fraction (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana polar fraction (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Sample concentrations in µg/ml		0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Peel (400 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized polar Banana fraction (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana polar fraction (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Sample concentrations in µg/ml		0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Pulp (600 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized polar Banana fraction (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana polar fraction (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Sample concentrations in µg/ml		0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Peel (600 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized polar Banana fraction (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana polar fraction (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	Sample concentrations in µg/ml	0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Pulp (900 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized polar Banana fraction (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana polar fraction (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	Sample concentrations in µg/ml	0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Peel (900 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized polar Banana fraction (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana polar fraction (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Table 1- Effect of polar banana extracts on helicobacter pylori growth (400 dd bananas, 600 dd bananas, 900 dd bananas) - No inhibition of Helicobacter pylori both from the banana pulp or peel, for each harvest ages.

	Sample concentrations in µg/ml	0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Pulp (400 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized Banana oil (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana oil (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Sterylglycosides (TLC)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	Sample concentrations in µg/ml	0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Peel (400 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized Banana oil (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana oil (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Sterylglycosides (TLC)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	Sample concentrations in µg/ml	0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Pulp (600 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized Banana oil (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana oil (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Sterylglycosides (TLC)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	Sample concentrations in µg/ml	0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Peel (600 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized Banana oil (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana oil (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Sterylglycosides (TLC)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	Sample concentrations in µg/ml	0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Pulp (900 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized Banana oil (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana oil (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized sterylglucosides (TLC)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	Sample concentrations in µg/ml	0	0,32	1,6	8	40	200	1000	12 500	25 000	50 000	100 000
Banana Peel (900 dd)	Unsterilized totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Totum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Unsterilized Banana oil (from maceration)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Banana oil (from Soxhlet extraction 120°C, 6h)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sterilized Sterylglycosides (TLC)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Table 2: Effect of apolar banana extracts on helicobacter pylori growth (400 dd bananas, 600 dd bananas, 900 dd bananas) - No inhibition of Helicobacter pylori both from the banana pulp or peel, for each harvest ages.

	Test substance (µg/ml)	Wells showing inhibitory activity		P values
		Number	Inhibition (%)	(Chi square test)
Bismuth subcitrate (BSC)	40	0/12	0	NS
	200	3/12	20	NS
	1000	6/12	50	<0,05

Table 3: Effect of Bismuth subcitrate (BSC) on In vitro growth of Helicobacter pylori (Goel et al, 2001)

## ABBREVIATIONS

BSC: bismuth subcitrate

dd : degree/day

FWI: French West Indies

*H. pylori* : Helicobacter pylori

Mw: molecular weight

TLC: Thin layer chromatography

V: volume

W: weight



## REFERENCES

- Bhattacharya S K, Ghosal S, 1987. Concerning the anti-ulcerogenic action of sitoindoside IV. *Phytotherapy research*, vol 1, N°2, short communication.
- Beil, W., Birkholz, C., Sewing, K.-Fr., 1995. Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. *Drug Research* 45, 697–700.
- Best, R., Lewis, D.A., Nasser, N., 1984. The antiulcerogenic activity of the unripe plantain banana. *British Journal of Pharmacology* 82, 107–116.
- Chattopadhyay S, Chaudhuri S and Ghosal S, 1987. Activation of peritoneal macrophages by sitoindoside-IV, an anti-ulcerogenic Acylsteryl glycoside from *Musa paradisiacal*; *Planta medica*.
- Chillet M, Hubert O, Rives MJ, De Lapeyre de Bellaire L, 2006. Effects if the physiological Age of bananas on their susceptibility to wound Anthracnose due to *Colletotrichum musae*. *Plant disease* 90, 1181 – 1185.
- Dunjic, B.S., Svensson, I., Axelson, J., Adlercreutz, P., Ar'rajab, A., Larsson, K., Bengmark, S., 1993. Green banana protection of gastric mucosa against aspirin induced injuries in rats. A Multicomponent Mechanism; *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 28, 894 – 898.
- Elliot R.C., Heward G.J.F., 1976. The effect of banana-supplemented diet on gastric ulcer in mice. *Pharmacological; Research Communications* 8, 167 – 171.
- Ghosal S, Saini K.S, 1984. Sitoindosides I and II, two new anti-ulcerogenic acysteryl glycoside from *Musa paradisiacal*. *Journal of Chem. Research* (S) 110; (M) 965 – 975.
- Ghosal S, 1985. Steryl glycosides and acylsteryl glycosides from *Musa paradisiacal*. *Phytochemistry* 24, 1807.
- Goel R.K., Bhattacharya S.K., 1991. Gastroduodenal mucosal defense and mucosal protective agents. *Indian Journal of Experimental Biology*; 29, 701–714

Goel R K, Chakrabarthy A, Sanyal A K, 1985. The effect of biological variables on the anti-ulcerogenic effect of vegetable plantain banana. *Planta medica*, 2, 85.

Goel, R.K., Govinda Das, D., Sanyal, A.K., 1985. Effect of vegetable banana power on changes induced by ulcerogenic agents on dissolved mucosubstances in gastric juice. *Indian Journal of Gastroenterology* 4, 249 – 251.

Goel R.K, Gupta S, Shankar R and Sanyal A.K, 1986. Anti-ulcerogenic effect of banana powder (*Musa sapientum* var. *paradisiacal*) and its effects on mucosal resistance. *Journal of ethnopharmacology*, 18, 33 – 44.

Goel R K, Sairam K, Rao Ch V, Raman A, 2001. Role of gastric antioxidant and anti-helicobacter pylori activities in antiulcerogenic activity of plantain banana (*Musa sapientum* var. *paradisiacal*). *Indian Journal of experimental biology*, vol. 39, 719 – 722

Jullien A, Chillet M & Malezieux E, 2008. Pre-harvest growth and development, measured as accumulated degree days, determine the post-harvest green life of banana fruit. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 83, 506- 512.

Kanazawa K, Sakakibara H, 2000. High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana, *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48, 844–848.

Lewis D.A, Fields W.N, Shaw G.P, 1999. A natural flavonoid present in unripe plantain banana pulp (*Musa sapientum* L. var. *paradisiacal*) protects the gastric mucosa from aspirin-induced erosions. *Journal of ethnopharmacology* 65, 283 – 288

McGuigan, J.E., 1991. Peptic ulcer and gastritis. In: Wilson, J.D., Braunwald, E., Isselbacher, K.J., Peterdorf, R.G., Martin, J.B., Fauchi, A.S., Root, R.K. (Eds.), *Harrisons Principles of Internal Medicine*, 12th ed. McGraw-Hill, New York, 1229.

Mokbel M.S and Hashinaga F, 2005. Antibacterial and antioxidant activities of Banana (*Musa*, AAA cv Cavendish) fruits peel. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 1 (3), 125 – 131.

Oliveira, L., Freire, C.S.R., Silvestre, A.J.D., Cordeiro, N., Torres, I.C., Evtuguin, D.V., 2005. Steryl glucosides from banana plant *Musa acuminata* Colla var *Cavendish*. *Ind. Crops Prod.* 22, 187 - 192.

Oliveira, L., Cordeiro, N., Evtuguin, D.V., Torres, I.C., Silvestre, A.J.D., 2007. Chemical composition of different morphological parts from ‘Dwarf Cavendish’ banana plant and their potential as a non-wood renewable source of natural product. *Ind. Crops Prod.* 26, 163–172.

Oliveira, L., Freire, C.S.R., Silvestre, A.J.D., Cordeiro, N., 2008. Lipophilic extracts from Banana fruit residues: a source of valuable phytosterols. *J. Agric. Food chem.* 2008, 56, 9520- 9524.

Rao Ch.V., Sairam K., Goel R.K., 2000. Experimental evaluation of *Bacopa monniera* on rat gastric ulceration and secretion. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* 44, 35–41.

Robert A., 1979. Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology* 77, 761–767.

Sairam K., Rao Ch.V., Goel R.K., 2001. Effect of *Centella asiatica* Linn on physical and chemical factors induced gastric ulceration and secretion. *Indian Journal of Experimental Biology* 39, 137–142.

Sanyal A K, Gupta K K & Chawdhury N K. (1964). Studies of peptic ulceration Part I: Role of banana in phenylbutazone induced ulcers, *Arch. Int Pharmacodyn*, 149, 393.

Sanyal A K, Banerjee C R & Das P K (1965). Studies on peptic ulceration Part II – Role of banana in restraint and prednisolone induced ulcer in albinos rats. *Arc Int Pharmacodyn*, 155, 244.

Scalbert A, Morand C, Manach C & Rémésy C, 2002. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed Pharmacother* 56, 276–282.

Simmonds, N.W., 1954. Anthocyanidins in banana. *Nature*; 173, 402–403.

Someya S, Yochiki Y, Okubo K, 2002. Antioxidant compounds from bananas (Musa Cavendish). Food Chemistry 79, 351–354.

## **CONCLUSION**

## Conclusion

Dans ce travail, notre préoccupation essentielle était d'apporter un éclairage nouveau sur l'impact des stades physiologiques de récolte dans les nutri-fonctionnalités observées et plus particulièrement au niveau des substances d'intérêt industriel et nutraceutique tels que l'amidon (amidon résistant, amidon digestible), les polyphénols (plus particulièrement, la dopamine en raison de ses fortes concentrations au sein de la banane), et les steryl glycosides présents au sein des bananes Cavendish.

Nous avons tenu à utiliser l'extraction en CO<sub>2</sub> supercritique car c'est une technologie qui permet d'obtenir un produit très pur qui ne contient pas de trace de solvant organique. Il était évident que nous ne pouvions parler de nutri-fonctionnalités ou des intérêts biologiques des molécules en faisant abstraction des procédés d'extraction. L'extraction en CO<sub>2</sub> supercritique est un procédé qui a été retenu dans nos travaux. Cette extraction en CO<sub>2</sub> supercritique est sélective des composés peu polaires et est particulièrement adaptée à l'extraction des phytostérols. Malheureusement, nous n'avons pas pu dans ce projet réaliser un suivi précis des steryl glycosides et en particulier des sitostérols IV présents au sein des peaux de bananes suite à une extraction en CO<sub>2</sub> supercritique. En effet, la plate-forme analytique du laboratoire où se sont déroulés les essais, ne disposait pas de LC-MS permettant de réaliser ce suivi. De plus, nous n'avons pas pu obtenir de standards de sitostérols IV après un tour d'horizon des différents fournisseurs les plus connus. L'extraction en CO<sub>2</sub> supercritique présente aussi l'avantage de pouvoir extraire à l'aide d'un co-solvant polaire tel que l'éthanol les molécules polyphénoliques. Un autre avantage à l'extraction en CO<sub>2</sub> supercritique reste la non- dénaturation par la température et la non- oxydation des molécules extraites. De même, pour des raisons de logistique liées aux quantités et aux coûts financiers de transport de matériel végétal frais, les essais en fluide supercritique (et flash détente) ont été menés uniquement à partir de bananes récoltés à maturité optimale commerciale ou vert mature tardif ( 900 degrés jour).

Dans une première partie de la bibliographie, nous avons présenté : le genre *Musa*, la composition nutritionnelle des bananes en terme de protéines, glucides et lipides. Nous avons également recensé au sein des bananes les molécules d'intérêt biologique puis les travaux de recherche sur les méthodes d'extraction en CO<sub>2</sub> supercritique et la flash détente.

La comparaison des teneurs en polyphénols totaux, et plus particulièrement de la dopamine, des teneurs en amidon en fonction de l'état physiologique du fruit à la récolte, et du stade de maturité

post-récolte a constitué l'essentiel de nos travaux de recherche. Ce travail de recherche semblait important à réaliser quand on connaît le rôle de la maturité mûrissement sur la composition biochimique des molécules et le rôle des stades physiologiques de récolte sur les paramètres externes (résistance à la couronne de pourriture, anthracnose). Il était par conséquent intéressant de pouvoir aussi identifier l'impact des stades physiologiques et du mûrissement sur la composition biochimique mais aussi sur les teneurs en molécules d'intérêt biologique, au sein des bananes.

Cette thèse s'est inscrite dans une perspective de valorisation de la filière bananière et en particulier, de valorisation des écarts de triage. Il faut effectivement savoir que dans un régime de bananes, un gradient de développement existe entre les fruits des différentes mains du régime. Les fruits des mains inférieures, moins remplis et donc plus petits sont généralement écartés du circuit de commercialisation et contribuent aux écarts de triage (environ 10 à 20%). Jullien et al., (2001) ont estimé que la différence entre les premières et dernières mains était de 70 degrés jour (dd).

De même, dans ces travaux, l'effet d'inhibition de la croissance de *Helicobacter pylori* a été étudié en fonction des différents stades physiologiques de développement (400, 600, 900 dd). Les teneurs en molécules actives variant avec le mûrissement, il a été démontré l'impact du stade physiologique de récolte sur les changements intervenant durant le mûrissement. *Helicobacter pylori* est une bactérie impliquée dans les phénomènes ulcéreux ; ces phénomènes ulcéreux mettent en jeu, dans un modèle de prévention des activités anti-ulcéreuses, des composés tels que les polyphénols, l'amidon. Pour les raisons de disponibilités de la matière première évoquées précédemment, l'extraction en CO<sub>2</sub> supercritique n'a pu être menée que sur des bananes 900 degrés jour, aussi bien sur la pulpe que la peau. La diffusion du soluté au sein de la particule est un processus lent. La solution consiste alors à broyer les particules de façon à briser les membranes intraparticulaires et à libérer le soluté. L'effet d'une modification de la granulométrie est bien connu et peut être appréciable en terme de rendement et de cinétique. Il l'est beaucoup moins en terme de pureté des extraits et de mise en œuvre du procédé. On peut se trouver confronté à des problèmes qui peuvent aller de la difficulté de séparation mécanique solide-fluide jusqu'à l'impossibilité d'obtenir un produit satisfaisant, l'élimination ultérieure des impuretés co-extraites n'étant pas toujours aisée.

Finalement, les perspectives de travail sont nombreuses et d'ordres divers.

Les bananes Cavendish, représentent les bananes les plus largement consommées dans le monde mais également les plus cultivées et consommées dans l'archipel des Antilles. Malheureusement, les temps de production des bananes dessert telles que les bananes Cavendish sont relativement longs (environ 9 -10 mois) et augmentent la probabilité des risques liés à la perte des récoltes (tempête, cyclones, cendres...). Pouvoir récolter les bananes à un stade plus précoce représente un véritable enjeu économique et biologique/ sanitaire. La précocité de la récolte peut donc constituer une alternative pour contourner les contraintes liées aux conditions agroenvironnementale de production. En effet, le risque afférent à l'endommagement de la récolte serait fortement diminué du fait d'un plus grand turn-over ; les stades précoces de récolte ont été recensés dans nos travaux comme les plus intéressants pour l'extraction des substances actives. Les écarts de triage, en partie, constitués par des bananes plus jeunes aux extrémités inférieures des régimes pourraient ainsi faire l'objet d'une revalorisation nutri-fonctionnelle. Le travail réalisé dans la thèse ouvre de nouvelles perspectives intéressantes pour la valorisation des productions bananières autrement qu'en produit consommé frais. Les variétés naturelles et/ou hybrides inadaptées au circuit de commercialisation locale ou d'export pourront trouver ici une forme de valorisation comme source de composés d'intérêt nutritionnel.

Nous pouvons aussi élargir ce travail à d'autres variétés de bananes, moins appréciées pour leurs caractéristiques organoleptiques mais probablement plus intéressantes en terme de substances actives présentes telles que la dopamine, les stérylglycosides etc. Nous pouvons investiguer aussi bien au sein des autres variétés de bananes dessert que des variétés de bananes à cuire.

Nous avons, par ailleurs, dans ces travaux, été confrontés à la difficulté d'assurer un approvisionnement régulier et important en matériel végétal frais. En effet, compte tenu du cycle de développement du bananier et du fruit *Cavendish* qui sont relativement longs, nous avons malheureusement dû faire face à quelques aléas climatiques (retombées des cendres du volcan de l'île de Montserrat sur la Guadeloupe, fortes pluies et vents) ou dû tenir compte des coûts de transport de matériel frais.

Une autre perspective de travail repose sur l'utilisation de d'autres procédés tels que l'extraction par ultrasons. L'extraction par ultrasons est un procédé qui peut être couplé à la flash détente. Ce procédé présente l'avantage de réduire les temps d'extraction.

L'extraction par solvant assistée par ultrasons consiste à traiter sous ultrasons un solide, sec ou humide, en contact avec un solvant comme l'hexane ou l'éthanol. On irradie par micro-ondes de la matière, végétale ou non, broyée au préalable en présence d'un solvant absorbant fortement les



micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. Après, une étape de séparation par centrifugation, les échantillons sont directement injectés sur colonne chromatographique. Cette technique se présente comme beaucoup plus efficace qu'une méthode conventionnelle et permet de réduire les temps d'extraction et donc les dépenses en énergie. Les ultrasons permettent effectivement d'accélérer l'extraction et de réduire le ratio solvant/charge. Un paramétrage adapté (puissance, cavitation, température, agitation) conduit, pour des durées d'extraction sous ultrasons de l'ordre de quelques minutes, à des rendements obtenus en quelques heures par des protocoles conventionnels. Cette mise en œuvre extrêmement courte préserve les composés les plus thermolabiles (acides gras poly-insaturés, caroténoïdes, polyphénols, arômes, alcaloïdes) des réactions de dégradation traditionnelles.

L'objectif de ce travail de thèse visait à explorer une forme de valorisation des bananes Cavendish, des écarts de triage, mais aussi des déchets de bananes (peaux) à travers l'obtention de molécules d'intérêt biologique. Les bananes Cavendish sont principalement consommées pour leurs caractéristiques organoleptiques et leur bonne digestibilité. Cependant, les bananiers dont sont issus les fruits sont des herbes très fragiles dont le développement long chez Cavendish (9- 10 mois) accroît le risque de probabilité de rencontrer des événements climatiques néfastes à la récolte (sécheresse, tempête, insectes...). Par ailleurs, la production antillaise doit rester compétitive face à celle des pays tiers. Ces travaux en contribuant à une meilleure connaissance des stades physiologiques de récolte permettraient de cibler au regard des teneurs en molécules actives les stades physiologiques les plus adéquats. Ainsi, les bananes immatures 400 dd sont celles qui présentent les teneurs en polyphénols totaux et en amidon les plus stables au cours du temps (essentiel pour le stockage) mais aussi les plus conséquentes proportionnellement à leur poids.

Un autre aspect intéressant de cette thèse concerne les procédés d'extraction utilisés. En effet, les rendements quantitatifs obtenus à partir de ces procédés innovants sont bien inférieurs à ceux de l'extraction par solvants au Soxhlet ; le soxhlet étant une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique afin de faire l'extraction par solvant continue d'une espèce chimique contenue dans une poudre solide. Toutefois, ces technologies dépourvues de solvants organiques et pouvant être réalisées sous vide laissent penser que les rendements, du point de vue qualitatif, seraient supérieurs dus principalement à la non dénaturation générée par l'usage de fortes températures pendant des temps relativement longs sur des molécules relativement sensibles à la chaleur et à l'oxydation. C'est dans cette mesure qu'il serait pertinent de valider quantitativement,

certes, mais aussi qualitativement les procédés de flash détente et d'extraction en fluide supercritique soit par une évaluation de l'activité cardiovasculaire sur aorte cardiaque soit par une évaluation de la protection anti-ulcéreuse sur modèles animaux. L'évaluation de l'activité antioxydante, représente également une analyse qualitative simple et ouvre à une nouvelle perspective de travail. Cette analyse permettrait effectivement de corrélérer les propriétés antioxydantes aux teneurs en polyphénols et autres composés aux propriétés antioxydantes.

Il semble également pertinent de pouvoir utiliser des techniques d'hydrolyse enzymatique afin de s'affranchir des contraintes liées à la gélatinisation de l'amidon. En effet, il a été observé que la gélatinisation de l'amidon était un facteur limitant à la libération/extraction des polyphénols totaux.

Je finirai cette conclusion en soulignant une fois de plus l'objectif triple ou plutôt les objectifs divers et communs de ce travail de recherche qui a porté sur la banane Cavendish.

Nous avons souhaité à travers cette thèse valoriser à la fois les déchets (peaux) et les écarts de triages (bananes qualifiées non conformes car abîmées et/ou principalement trop immatures pour être commercialisées et en général, issues des mains inférieures des régimes de bananes).

Nous avons également souhaité caractériser les bananes Cavendish FWI (et plus particulièrement les bananes Cavendish de la Guadeloupe) dans l'objectif de contribuer à une cartographie/labellisation AOC pour les critères nutritionnels.

Un ultime objectif a été, à travers le ciblage de molécules bien spécifiques soit en raison de leurs fortes teneurs (dopamine) ou de leur unicité (sitoindoside IV), l'étude de leurs effets préventifs dans des activités anti-ulcères (polyphénols et stérols glycosylés) et/ou cardiovasculaires et plus particulièrement dans étude menée sur des totums de bananes en comparaison au référent dopamine pour l'évaluation de l'activité cardio-vasculaire.

Ces travaux ont permis d'aborder les thématiques cardiovasculaires et anti-ulcéreuses, les effets santé de la banane en particulier dans des conditions de pathologies afin de démontrer l'intérêt de ce fruit pour la santé humaine tant sur le plan alimentaire que pharmaceutique.

## BIBLIOGRAPHIE

- Adisa, V. A., & Okey, E. N. (1987). Carbohydrate and protein composition of banana pulp and peel as influenced by ripening and mold contamination. *Food Chemistry*, 25, 85–91.
- Akubor, P. I., Obio, S. O., Nwodomere, K. A., & Obiomah, E. (2003). *Production and quality evaluation of banana wine. Plant Foods for Human Nutrition*, 58, 1- 6.
- Ali,M; Bhutani, KK and Atal, CK. *Chemical Constituents of Banana*. Journal of. Scientific & Industrial Research 1984, 43: 316-323. 97.
- Agelopoulos, N. G., & Pickett, J. A. (1998). Headspace analysis in chemical ecology: effects of different sampling methods on ratios of volatile compounds present in headspace samples. *Journal of Chemical Ecology*, 24(7), 1161-1172.
- Andrews T., (1869). *Phil. Trans. Roy. Soc*, 159, 575 – 590.
- Anonymous (1981). Pour mieux se nourrir en Guadeloupe. Comité Guadeloupéen pour la journée mondiale de l'alimentation. pp. 1- 47
- Aragon, C.T., 2000. Fiber Crops Program Area Research Planning and Prioritization. Discussion Paper Series No. 2000-30, 150.
- Asiedu JJ (1987). Physiochemical changes to plantain (*Musa paradisiaca*) during ripening and the effect of the degree of ripeness on drying. *Trop. Sci.* 27, 249 – 260.
- Aurore G, Ginies C, Ganou-parfait B, M.G.C.Renard C, Fahrasmane L, (2011). Comparative study of free and glycoconjugated volatile compounds of three banana cultivars from French West Indies: Cavendish, Frayssinette and Plantain. *Food chemistry*.
- Baixaui, R., Salvador, A., Martínez-Cervera, S. ., Fiszman, S.M. (2008). Distinctive sensory feature introduced by resistant starch in baked products. *LWT - Food Science and Technology*, Volume 41, Issue 10, 1927- 1933.
- Bakry F. Choice of material used to isolate protoplasts in the banana-tree (*Musa spp.*), Musaceae. (1984). Vol. 39, n°7-8, pp. 449-452
- Bakry F. et al., (1997). Les bananiers. *In* : Charrier A., Hamon S., Jacquot M. & Nicolas D., eds. *L'amélioration des plantes tropicales*. Montpellier, France : CIRAD/ORSTOM, 109-139.
- Beil, W., Birkholz, C., Sewing, K.-Fr., (1995). Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. *Drug Research* 45, 697–700.

- Bello-Perez, L. A., Agama-Acevedo, E., Sanchez-Hernandez, L., & Paredes- Lopez, O. (1999). Isolation and partial characterization of banana starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 854–857.
- Bello-Perez, L. A., Agama-Acevedo, E., Sayago-Ayerdi, S. G., Moreno-Damian, E., & Figueroa, J. D. C. (2000). Some structural, physicochemical and functional studies of banana starches isolated from two varieties growing in Guerrero, Mexico. *Starch/Staerke*, 52, 68–73.
- Bello-Perez, L. A., Contreras-Ramos, S. M., Jimenez-Aparicio, A., & Paredes-Lopez, O. (2000). Acetylation and characterization of banana (*Musa paradisiaca*) starch. *Acta cientifica venezolana*, 51, 143–149. *Chemical Abstracts* 135: 136576.
- Bello-Perez, L. A., Pano de Leon, Y., Agama-Acevedo, E., & Paredes- Lopez, O. (1998). Isolation and partial characterization of amaranth and banana starches. *Starch/Staerke*, 50, 409–413.
- Bello-Perez, L. A., Romero-Manilla, R., & Paredes-Lopez, O. (2000). Preparation and properties of physically modified banana starch prepared by alcoholic-alkaline treatment. *Starch/Staerke*, 52, 154–159.
- BeMiller, J. N. (1997). Starch modification: Challenges and prospects. *Starch/Staerke*, 49, 127–131.
- Ben-Yehoshua S, Shapiro B, Chen EZ, Lurie S (1983). Mode of action of plastic film in extending life of lemon and bell pepper fruits by alleviation of water stress. *Plant Physiol*, 73 : 87-93
- Best, R., Lewis, D.A., Nasser, N., (1984). The antiulcerogenic activity of the unripe plantain banana. *British Journal of Pharmacology* 82, 107–116.
- Bhattacharya S K, Ghosal S, (1987). Concerning the anti-ulcerogenic action of sitoindoside IV. *Phytotherapy research*, vol 1, N°2, short communication.
- Biale JB (1964). Growth, maturation and senescence in fruits. *Science*, 146 : 880-888.
- J.L. Ble-Castillo<sup>1</sup>, M.A. Aparicio-Trápala<sup>2</sup>, V. Olvera-Hernandez<sup>1</sup>, Rodriguez-Hernandez<sup>3</sup>, H.I.E. Juarez-Rojop<sup>1</sup>, H. Aguilar-Mariscal<sup>1</sup>, M.P. Vázquez-Sanchez<sup>1</sup>, J.C. Diaz-Zagoya<sup>1</sup> (2011). Beneficial effect of banana resistant starch to reduce glycemia and lipids into two animal models with dismetabolic disorders. *Atherosclerosis supplements* 12, N°1, 13- 84
- Bonnier G, (1986). *Plantes médicinales, plantes mellifères, plantes utiles et nuisibles*. Editions Lavoisier.
- Bousquet C, (1992). *Explora ; La génétique*, Presse pocket 192
- Bowadt S, Johnson B, Pelusio F, Larsen BR, Rovida CJ (1995). *J. of chromatogr. A*, 662 , 424
- Bruneton J (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales*, Ed, Tec et Doc, Paris

Bugaud, C., Chillet, M., Beauté, M.P., Dubois, C., (2006). Physicochemical analysis of mountain bananas from the French West Indies. *Sci. Hort.* 108, 167–172.

Bugaud, C., Daribo, M.O., Dubois, C., (2007). Climatic conditions affect the texture and colour of Cavendish bananas ('Grande Naine' cultivar). *Sci. Hort.* 113, 238–243.

Cagniard de la Tour, (1822). *Ann. Chim. Phys.*, 21, 127 – 132, 178 – 182.

Cano P, Bengona de Ancos, Matallana C, Camara M, Reglero G, Tabera J. (1997). Differences among Spanish and Latin american banana cultivars : morphological, chemical and sensory characteristics. *Food chemistry*, Vol 59, 3, 411 – 419.

Cerning-Beroard, J., & le Dividich, J. (1976). Feed value of some starchy tropical products: In vitro and in vivo study of sweet potato, yam, malanga, breadfruit, and banana. *Annales de Zootechnie*, 25, 155–168.

Champion J., (1963). *Le bananier*. Paris : Maisonneuve et Larose.

Champion, J. (1967). Les bananiers et leur culture. 1. Botanique et génétique. IFAC, SETCO ed. Paris, 214 pp.

D Charalampopoulos, R Wang, S.S Pandiella, C Webb (2002). Applications of cereals and cereal components in functional foods : a review. *International Journal of food microbiology*, 79, 131-141.

Charles, R.J., Tung, M.A., (1973). Physical, rheological and chemical properties of bananas during ripening. *J. Food Sci.* 38, 456–459.

Chattopadhyay S, Chaudhuri S and Ghosal S, (1987). Activation of peritoneal macrophages by sitoindoside-IV, an anti-ulcerogenic Acylsteryl glycoside from *Musa paradisiacal*; *Planta medica*.

Cheesman EE ( 1947). Classification of the bananas. *Bulletin of miscellaneous information*, N°2.

Chen C. R. et Ramaswamy H. S. (2002) Color and Texture Change Kinetics in Ripening Bananas. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 35, 415–419

Cheng G, Duan X, Shi J, Lu W, Luo Y, Jiang W, Jiang Y. (2008). Effet of reactive oxygen species on cellular wall disassembly of banana fruit during ripening. *Food chemistry*, Vol 109, Issue 2, 319 – 324.

Chillet M., Hubert O., Rives M.J., deLapeyre de Bellaire L., 2006. Effects of the physiological age of bananas on their susceptibility to wound anthracnose due to *Colletotrichum musae*. *Plant Dis.* 90, 1181–1185.

Chillet M., De Lapeyre de Bellaire L., Hubert O., Mbéguié-A-Mbéguié (2008) D.. Mechanical characterization of banana fruits.. *Fruits*, 63 (1) : 51-52.

Ciquel & Cneva (1993). Répertoire général des aliments. In: Table de composition des fruits exotiques de cueillette d'Afrique, Vol. 1. France: ORSTOM Editions/Tec & Doc Lavoisier/INRA Editions. pp. 8-12.

- CIRAD (2001). Les usages multiples du bananier, Fiche technique.
- Cirad-Filhor, (2003). Bananes for ever - La diversité génétique des bananiers. *FruiTrop* 99:5.
- Collin, M. N., & Dalnic, R. (1991). Variation de quelques critères physico-chimiques de la banane plantain (cultivar Orishele) au cours de la maturation. *Fruits*, 46(1), 13–17.
- Colonna O., Leloup V, Buleon A (1992). Limiting factors of starch hydrolysis. *European journal of clinical nutrition*, Vol 46; 517-517, sup 2.
- Cook, N.C., S. Samman, S. (1996). Flavonoids: Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, *J Nutr Biochem* 7, 66–76.
- Cordenunsi, B. R., & Lajolo, F. M. (1995). Starch breakdown during banana ripening: sucrose synthase and sucrose phosphate synthase. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 43, 347–351.
- Cummings, J. H., & Englyst, H. N. (1991). Measurement of starch fermentation in the human large intestine. *Canadian Journal of Physiological Pharmacology*, 69, 121–129.
- Daniells J.W. et al., (2001). *Musalogue: a catalogue of Musa germplasm*. Diversity in the genus *Musa*. Montpellier, France : INIBAP.
- Diouf, P.N. (2003). Étude comparative de méthodes de mesure de l'activité antioxydante. Applications aux extractibles de bois. Liens avec la stabilité de la couleur du bois. Thèse doctorat. Université Henri Poincaré. France.
- Dunjic, B.S., Svensson, I., Axelson, J., Adlercreutz, P., Ar'rajab, A., Larsson, K., Bengmark, S., (1993). Green banana protection of gastric mucosa against aspirin induced injuries in rats. A Multicomponent Mechanism; *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 28, 894 – 898.
- Eggers R.,(1985). High pressure extraction of oil seed. *JAOCS* 62 8, 1222 – 1230.
- Eggleston, G., Swennen, R., & Akoni, S. (1992). Physicochemical studies on starches isolated from plantain cultivars, plantain hybrids and cooking bananas. *Starch/Staerke*, 44, 121–128.
- Emaga; Andrianaiivo; Wathélet; Tchango; Paquot. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels (2007). *Food chemistry*, vol 103, Issue 2, pp 590-600
- Elliot R.C., Heward G.J.F., (1976). The effect of banana-supplemented diet on gastric ulcer in mice. *Pharmacological; Research Communications* 8, 167 – 171.
- Ettre, L. S. (2003). Retention index expressions. *Chromatographia*, 58(7/8), 491-494.
- Fager J, Marty A Combes D, Condoret JS, Frayssinet P (1994). The use of supercritical carbon dioxide for bone dilapidation, biomaterials, 15, 650 – 656.
- Faisant, N., Buleon, A., Colonna, P., Molis, C., Lartigue, S., Galmiche, J. P., & Champ, M. (1995). Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: Structural features of resistant starch. *British Journal of Nutrition*, 73, 111–123.

- Faisant, N., Champ, M., Colonna, P., Buleon, A., Molis, C., Langkilde, A. M., Schweizer, T., Flourie, B., & Galmiche, J. P. (1993). Structural features of resistant starch at the end of the human small intestine. *Eur J Clin Nutr.* 47(4):285-96.
- Faisant, N., Gallant, D. J., Bouchet, B., & Champ, M. (1995). Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49, 98–104.
- FAO (1991). Racines, tubercules, plantains et bananes dans la nutrition humaine. Collection FAO Nutrition 24.
- Fengel, D., Wegener, G. (1984). *Wood chemistry ultrastructure reactions*. Walter de Gruyter. Berlin. New York . pi 85
- Fernandes, K. M., Carvalho, V. D., & Cal-Vidal, J. (1979). Physical changes during ripening of silver banana. *Journal of Food Science*, 44(4), 1254–1255.
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M.J., Sánchez-Zapata, E., Pérez-Álvarez, J.A. (2010). Resistant starch as functional ingredients: a review. *Food research international*, Vol. 43 (4), 931-942
- Fuhrman, J.A. et L. Campbell. 1998. Microbial microdiversity. *Nature ( London )* 393: 410-411.
- Fuwa, H., Sugimoto, Y., Takaya, T., & Nikuni, Z. (1979). Scanning electron-microscopy of starch granules, with or without amylase attack. *Carbohydrate Research*, 70, 233–238.
- Ghosal, S., Saini, K.S., (1984). Sitoindosides I and II: two new anti-ulcerogenic sterylacylglucosides from *Musa paradisiaca*. *J. Chem. Res. (S)*, 110.
- Ghosal, S., (1985). Steryl glycosides and acyl steryl glycosides from *Musa paradisiaca*. *Phytochemistry* 24, 1807–1985.
- Glass, R. W., & Rand, A. G. (1982). Alginate immobilization of banana pulp enzymes for starch hydrolysis and sucrose interconversion. *Journal of Food Science*, 47, 1836–1839.
- Goel R.K., Bhattacharya S.K., (1991). Gastroduodenal mucosal defense and mucosal protective agents. *Indian Journal of Experimental Biology*; 29, 701–714.
- Goel R K, Chakrabarthy A, Sanyal A K, (1985). The effect of biological variables on the anti-ulcerogenic effect of vegetable plantain banana. *Planta medica*, 2, 85.
- Goel, R.K., Govinda Das, D., Sanyal, A.K., (1985). Effect of vegetable banana power on changes induced by ulcerogenic agents on dissolved mucosubstances in gastric juice. *Indian Journal of Gastroenterology* 4, 249 – 251.
- Goel R.K, Gupta S, Shankar R and Sanyal A.K, (1986). Anti-ulcerogenic effect of banana powder (*Musa sapientum* var. *paradisiacal*) and its effects on mucosal resistance. *Journal of ethnopharmacology*, 18, 33 – 44.
- Goel R K, Sairam K, Rao Ch V, Raman A, (2001). Role of gastric antioxidant and anti-helicobacter pylori activities in antiulcerogenic activity of plantain banana (*Musa sapientum* var. *paradisiacal*). *Indian Journal of experimental biology*, vol. 39, 719 – 722.

Goetz M.E; Luch A (2008). Reactive species: a cell damaging route assisting to chemical carcinogens. *Cancer Lett.* 266, 73 – 83.

Grierson D., Tucker G.A. & Robertson N.G., (1981). The molecular biology of ripening. In: Friend J. & Rhodes M.J.C., eds. *Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables*. London: Academic Press, 149-160.

Gross, G.G., (1999). Biosynthesis of hydrolyzable tannins. In: Pinto, B.M. (Ed.), *Comprehensive Natural Products Chemistry, Carbohydrates and Their Derivatives Including Tannins, Cellulose, and Related Lignins*, vol. 3. Elsevier, Amsterdam, pp. 799–826.

Hammond, J. B., Egg, R., Diggins, D., & Coble, G. C. (1996). Alcohol from bananas. *Bioresources Technology*, 56(1), 125-130.

Hannay J B, Hogarth J (1879). On the solubility of solid in gases, *Proceedings of the Royal Society*. London (1879), 29.

Happi Emaga, T., Herinaivalona Andrianaivo, R., Wathelet, B., Tchango Tchango, J., & Paquot, M. (2007). Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. *Food Chemistry*, 103(2), 590- 600.

Havsteen B (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. Vol 32, Issue 7, 1141 – 1148.

Heim Kelly E., Tagliaferro Anthony R. \*, Bobilya Dennis J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13, 572–584.

Hernández, O., Emaldi, U., & Tovar, J. (2008). In vitro digestibility of edible films from various starch sources. *Carbohydrate Polymers*, 71, 648–655.

Heslop-Harrison J.S. & Schwarzacher T., (2007). Domestication, genomics and the future for banana. *Annals of Botany*, 100: 1073-1084.

Ibanez, E., Lopez-Sebastian, S., Ramos, E., Tabera, J., & Reglero, G. (1998). Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase extraction. *Food Chemistry*, 63(2), 281-286.

Jones D.R., (2000). *Diseases of banana, abaca and enset*. Wallingford, UK: Cabi Publishing.

Jordan, M. J., Tandon, K., Shaw, P. E., & Goodner, K. I. (2001). Aromatic profile aqueous banana essence and banana fruit by gas-chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and gas-chromatography-olfactometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4813-4817.

Jullien A, Chillet M & Malezieux E, (2008). Pre-harvest growth and development, measured as accumulated degree days, determine the post-harvest green life of banana fruit. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 83, 506- 512.

Kanazawa K, Sakakibara H, (2000). High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana, *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48, 844–848.



- Kasongo, K., (2005). Etude du taux des multiplications rapides Ex situ chez 3 cultivars *acuminata* diploïde, triploïde, tétraploïde de bananier après décapitation et utilisation de 6 benzylaminopyrine (BAP) à Kisangani, Mémoire, Faculté des sciences, UNIKIS. 39p.
- Kayisu, K., & Hood, L. F. (1981). Molecular structure of banana starch. *Journal of Food Science*, 46, 1894–1897.
- Kayisu, K., Hood, L. F., & Vansoest, P. J. (1981). Characterization of starch and fiber of banana fruit. *Journal of Food Science*, 46, 1885–1890.
- Kelly E Heim, Anthony R Tagliaferro, Dennis J Bobilya (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure- activity relationships. *The journal of nutritional biochemistry*, Vol 13, Issue 10, 572- 584.
- Kerbellec F. (1995). Etablissement d'une technique d'endrogenèse pour l'amélioration génétique du bananier (*Musa ss.*). Thèse. ENSA de Rennes. 227 pp
- Kojima K, Sakurai N, Kuraishi S, Yamamoto R, Inaba A. (1992). Physical measurement of firmness of banana fruit pulp: determination of optimum conditions for measurement. *Postharvest Biology and Technology*. Vol 2, Issue 1, 1992, 41 – 49.
- Kojima, K, Japan Agricultural Research Quarterly
- Kondo Kazunari, Kurihara Masaaki, Miyata Naoki, Suzuki Takashi, Toyoda Masatake (1999). Mechanistic studies of catechins as antioxidants against radical oxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, vol 362, Issue 1, 79-86.
- Larrigaudière C, Latché A, Pech JC, Triantaphylidès C (1990). Short-term effects of irradiation on 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid metabolism in early climacteric cherry tomatoes. *Plant Physiol*, 92 : 577-581.
- Lassois L ; Busogoro, JP ; Jikakli H. (2009). La banana: de son origine à sa commercialisation. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2009 13(4), 575-586
- Lassoudière A., (1978). Le bananier et sa culture en Côte d'Ivoire, première partie : connaissance de la plante, interaction avec le milieu écologique. Institut de Recherche sur les Fruits et Agrumes (IRFA), Abidjan, Côte d'Ivoire.
- Lassoudière A., (2007). Le bananier et sa culture. Versailles, France : Éditions Quæ.
- Lassoudière A, (2010). History of the banana plant. Editions A. Lassoudière
- Lavergne R, Vera R. (1989). Etude ethnobotanique des plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle à la Réunion. *Médecine traditionnelle et pharmacopée*, 1 vol. (236 p.) : ill. ; 24 cm
- Lescot T., (1998). Les bananiers : une diversité méconnue. *Fruitrop*, **51**, 8.

Lewis D.A, Fields W.N, Shaw G.P, (1999). A natural flavonoid present in unripe plantain banana pulp (*Musa sapientum* L. var. *paradisical*) protects the gastric mucosa from aspirin-induced erosions. *Journal of ethnopharmacology* 65, 283 – 288

Li M., Slaughter D.C. & Thompson J.F., 1997. Optical chlorophyll sensing system for banana ripening. *Postharvest Biol. Technol.*, 12, 273-283.

Ligin W., (2005). Phytochemical constituents of five plants. [En ligne]: <http://www.Kib.ac.cn/KIBEnglish/soft/99.htm>

**Lii C.Y, Chang S.M; Y.L Young. Investigation of the Physical and Chemical Properties of Banana Starches. (1982). Journal of Food Science; Vol 47, Issue 5, pages 1493 – 1497.**

Ling, L. H., Osman, E. M., Fernandes, J. B., & Reilly, P. J. (1982). Physical properties of starch from Cavendish banana fruit. *Starch/Staerke*, 34, 184–188.

Littmann MD (1971). Effect of water loss on the ripening of climacteric fruits. *Queensland J Agric Anim Sci*, 29 : 131-136

Liu, T.-T., & Yang, T.-S. (2002). Optimization of solid-phase microextraction analysis for studying change of headspace flavor compounds of banana during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 653-657.

Loeillet D., 2005. Le commerce international de la banane: entre évolution et révolution. *FruitTrop* 129:2-19.

Loeseck. (1950). Chemical changes during ripening bananas. *Chemistry physiology and technology*, 4 (p. 67–118). New York: Interscience

Lu YJ, Stevens C, Khan VA, Kabwe M (1991). The effect of ultraviolet irradiation on shelf-life and ripening peaches and apples. *Food Qual* : 14, 299-305.

Lunn, J & Buttriss, J.L. (2007). Carbohydrates and dietary fibre. *Nutrition bulletin*, 32, 21- 64.

Marchal, J. (1993). The quality of dessert bananas and plantains. *Fruit*, 8(1), 40e44.

Marcheix JJ ; Fleuriet A ; Jay- Allemand C (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques. 84-86.

Marriott, J., & Lancaster, P. A. (1983). Bananas and plantains. In H. T. Chan Jr. (Ed.), *Handbook of tropical foods* (pp. 85e143). New York/Basel: Marcel Dekker, Inc.

**Maxie EC, Abdel-Kader A** (1966). Food irradiation-physiology of fruits as related to feasibility of the technology. *Ad. Food Res*, **15** : 105-145.

Mayr, D., van Ruth, S. M., & Mark, T. D. (2003). Evaluation of the influence of mastification on temporal aroma release of ripe and unripe bananas, using a model mouth system and gas-chromatography-olfactometry. *European Food Research and Technology*, 217(4), 291-295.

Mbida Mindzie, Christophe ; Doutrelepon, Hughes ; Vrydaghs, Luc ; Swennen, Rony ; Swennen, Rudy ; Beeckman, H ; De Langhe, Edmond ; De Maret, P. (2001). First archeological evidence of banana cultivation in central Africa during the third millenium before present .Vegetation History and Archaeobotany vol :10 pages:1-6.

McCarthy, A. I., Palmer, J. K., Shaw, C. P., & Anderson, E. E. (1963). Correlation of gas chromatographic data with flavor profiles of fresh banana fruit. *Journal of Food Science*, 28(4), 379-384.

McGuigan, J.E., (1991). Peptic ulcer and gastritis. In: Wilson, J.D., Braunwald, E., Isselbacher, K.J., Peterdorf, R.G., Martin, J.B., Fauchi, A.S., Root, R.K. (Eds.), *Harrisons Principles of Internal Medicine*, 12th ed. McGraw-Hill, New York, 1229.

Mokbel M.S and Hashinaga F, 2005. Antibacterial and antioxidant activities of Banana (*Musa*, AAA cv Cavendish) fruits peel. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 1 (3), 125 – 131.

Morris,VJ (1990). Starch gelatinization and retrogradation. *Trends in food Science and Technology*; Vol 1, 2-6.

Mota, R. V., Lajolo, F. M., & Cordenunsi, B. R. (1997). Composicion en carbohidratos de algunos cultivares de banana (*Musa* spp.) durante el amadurecimiento. *Ciencia Tecnologia de Alimentos*, 17(2), 94-97.

Nofrarias M, Martínez-Puig D, Pujols J, Majó N and Pérez J F. (2007). Long-term intake of resistant starch improves colonic mucosal integrity and reduces gut apoptosis and blood immune cells. *Nutrition* 23, 861-870.

Nogueira, J. M. F., Fernandes, P. J. P., & Nascimento, A. M. D. (2003). Composition of volatiles of banana cultivars from Madeira island. *Phytochemical Analysis*, 14(2), 82-90.

Nwanekezi E.C., Alawubu O.C.G. & Mkpolulu C.C.M.,(1994). Characterization of pectic substances from selected tropical fruits. *J. Food Sci. Technol.*, 31, 159-161.

Oliveira, L., Freire, C.S.R., Silvestre, A.J.D., Cordeiro, N., Torres, I.C., Evtuguin, D.V., (2005). Steryl glucosides from banana plant *Musa acuminata* Colla var *Cavendish*. *Ind. Crops Prod.* 22, 187 - 192.

Oliveira, L., Freire, C.S.F., Silvestre, A.J.D., Cordeiro, N., Torres, I.C., Evtuguin, D., (2006). Lipophilic extractives from different morphological parts of banana plant “Dwarf Cavendish”. *Ind. Crops Prod.* 23, 201-211.

Oliveira, L., Cordeiro, N., Evtuguin, D.V., Torres, I.C., Silvestre, A.J.D., (2007). Chemical composition of different morphological parts from 'Dwarf Cavendish' banana plant and their potential as a non-wood renewable source of natural product. *Ind. Crops Prod.* 26, 163–172.

Omoaka P.O., 2000. Postharvest physiology, ripening and quality evaluation in banana (*Musa* sp.) fruits. Doctoraatsproefschrift. Katholieke Universiteit Leuven. Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Departement Toegepaste Plantwetenschappen. N°445.

Pech J-C., Bouzayen M., Latche A.,(2008). Climacteric fruit ripening: Ethylene-dependent and independent regulation of ripening pathways in melon fruit. *Plant science* 175, 114-120.

Perrier X., De Langhe E., Donohue M., Lentfer C., Vrydaghs L., Bakry F., Carreel F., Hippolyte I., Horry J-P., Jenny C., Lebot V. , Risterucci A-M., Omeke K.,Doutrelepont H., Ball T., Manwaring J., de Maret P. and Denham T. (2011). Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp) domestication. *PNAS*

Perrut M. (2000). Supercritical fluid applications : industrial developments and economic issues, proceeding of the 5<sup>th</sup> international symposium on supercritical fluids. Atlanta.

Poli G ; Albano E ; Dianzani MU (1987). The role of lipid peroxidation in liver damage. *Chem and phys Lipids*, 45, 117 – 142.

T. N. Prabha and N. Bhagyalakshmi. Carbohydrate metabolism in ripening banana fruit. *Phytochemistry*. Vol. 37\ No[ 5\ pp. 804\_808\ 0887

Rabbani GH, Teka T (2004). Green banana and pectin improve small intestinal permeability and reduce fluid loss in Bangladesh children with persistent diarrhea. *Dig. Dis. Sci* 2004, March, 49 (3): 475-84.

Rao Ch.V., Sairam K., Goel R.K., (2000). Experimental evaluation of *Bacopa monniera* on rat gastric ulceration and secretion. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* 44, 35–41.

Recassens F, Larrayoz M A, Puiggene J. (1997). Free liquid to supercritical fluid mass transfer in packed beds. *Chem eng. Sci.* vil 52 2, 195 – 212.

Regina, C. A., & Glo´ria, M. B. A. (2005). Bioactive amines and carbohydrate changes during ripening of 'Prata' banana (*Musa acuminata* · *Musa balbisiana*). *Food Chemistry*, 90, 705–710.

Ribéreau-Gayon P (1968) Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris, 254

Riedrich J P, Pryde E H. (1984). Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lipid-bearing materials and characterization of the products. *JAOCS* 61 2, 223 – 228.

Robinson J.C. (1996). Bananas and Plantains CAB International, Wallingford. U.K. pp.238.

Saduing C D, Lucien F P, Foster N R,(1998). Steric effects and interfacial interactions in supercritical carbon dioxide. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 37, 4190 – 4197.

- Sairam K., Rao Ch.V., Goel R.K., (2001). Effect of *Centella asiatica* Linn on physical and chemical factors induced gastric ulceration and secretion. *Indian Journal of Experimental Biology* 39, 137–142.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch – A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5, 1–17.
- Sakai T., Sakamoto T., Hallaert J. & Vandamme E.J.,(1993). Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties and application. *Adv. Appl. Microbiol.*, 39, 213-294.
- Salunkhe DK (1990). Dietary tannins: consequences and remedies. Boca Raton, Florida: CRP Press.
- Santos-Buelga C., Scalbert A., (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds – Nature occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journ. Sci. Food. Agric.* 80, 1094 – 1117.
- Sanyal A K, Gupta K K & Chawdhury N K. (1964). Studies of peptic ulceration Part I: Role of banana in phenylbutazone induced ulcers, *Arch. Int Pharmacodyn*, 149, 393.
- Sanyal A K, Banerjee C R & Das P K (1965). Studies on peptic ulceration Part II – Role of banana in restraint and prednisolone induced ulcer in albinos rats. *Arc Int Pharmacodyn*, 155, 244.
- Scalbert A, Morand C, Manach C, Remesy C, (2002). Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed pharmacother* 56, 276 – 282.
- Schneeman, B. O. (1987). Soluble and insoluble fiber-different physiological response. *Food Technology*, 2, 81–82.
- Scrive M (1990). *Biologie et génétique, La science et les hommes/ La vie ; Editions Messidor/ La farandole* Paris, 127.
- Serafini, M., Laranjinha, J.A., Almeida, L.M., Maiani, G. 2000. Inhibition of human LDL lipid peroxidation by phenol-rich beverages and their impact on plasma total antioxidant capacity in humans. *J. Nutr.Biochem.* 11: 585-590.
- Simmonds, N.W., (1954). Anthocyanidins in banana. *Nature* 173, 402–403.
- Simmonds N.W. & Shepherd K., (1955). Taxonomy and origins of cultivated bananas. *J. Linn. Soc. Bot.*, **55**, 302- 312.
- Simmonds N., (1962). *The evolution of the bananas*. New York, USA: John Willey & Sons Inc.
- Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158

- Someya S, Yochiki Y, Okubo K, (2002). Antioxidant compounds from bananas (Musa Cavendish). Food Chemistry 79, 351–354.
- Sovova H (1994). Rate of the vegetable extraction with supercritical CO<sub>2</sub> –I: modelling extraction curves. Che. Eng. Sci. 49, 409 – 414.
- Sovova H, Kugera J, Jez J (1994). Rate of the vegetable extraction with supercritical CO<sub>2</sub> – II: extraction of grape. Chem. Eng. Sci. 49, 415 – 420.
- Stover R.H. & Simmonds N.W., (1987). *Bananas*. London: Longman Scientific & Technical.
- Sugimoto, Y., Fujita, S., Takaya, T., & Fuwa, H. (1980). In vivo digestion of banana starch granules. Starch/Staerke, 32, 290–294.
- Tchango, J et Ngalani J. (1998). Transformation et utilisation alimentaire de la banane plantain en Afrique Centrale et Occidentale, In : Bananas and Food Security, 361-365.
- Tharanathan, R. N. (2002). Food-derived carbohydrates: Structural complexity and functional diversity. Critical Reviews in Biotechnology, 22(1), 65–84.
- Tester, R. F., & Karkalas, J. (2002). Starch. In E. J. Vandamme, S. de Baets, & A. Steinbuechel, Polysaccharides II. Biopolymers (Vol. 6) (pp. 381–438). Weinheim: Wiley, 381–438.
- Tezenas Du Montcel, H. (1985). Evaluation des collections d'Asie du Sud-Est (Thaïlande, Malaisie, Indonésie). CIRAD/IRFA. *Rapport de mission* 30/3–24/4.
- Terra, N. N., Garcia, E., & Lajolo, F. M. (1983). Starch-sugar transformation during banana ripening: the behaviour of UDP glucose pyrophosphorylase, sucrose synthetase and invertase. Journal of Food Science, 48, 1097–1100.
- Van der Waals J D (1873). Die kontinuierât des flüssigen und gasförmigen Zustands PhD dissertation University of Leiden.
- Vendrell M, McGlasson WB ( 1971). Inhibition of ethylene production in banana fruit tissue by ethylene treatment. *Aust J Biol Sci*, 24 : 885-895.
- Vermeir S., M.L.A.T.M. Hertog, K. Vankerschaver, R. Swennen, B.M. Nicolai "", J. Lammertyn. (2009). Instrumental based flavour characterisation of banana fruit. Food Science and Technology 42, 1647-1653.
- Von Loesecke, 1950. Chemical changes during ripening bananas. Chem. Physiol. Technol., 4, 67-118.
- Waalkes, T.P., A. Sjoerdsma, C.R. Creveling, H. Weissbach, and S. Udenfriend. (1958). Serotonin, Norepinephrine, and Related Compounds in Bananas. *Science* **127**:648-650.

Wade, N.L., Kavanagh, E.E., Hockley, D.G., Brady, C.J., (1992). Relationship between softening and the polyuronides in ripening banana fruit. *J. Sci. Food Agric.* 60, 61–68.

Wang A.X., Qi Zhang Z.J., 2004. Phenylpropanosids, lignans and other constituents from *Cremanthodium ellisii*. [en ligne]. <http://www.extenza-eps.com/GVR/doi/abs/10.5555/phmz.2004.59.11.889>.

Wolfe K.L ; Liu R.H; (2008). Structures-activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay. *J. Agric. Food Chemistry*, 56, 8404 – 8411.

Wong C. et al., (2002). Assessment of validity of the sections in *Musa* (Musaceae) using AFLP. *Ann. Bot.*, **90**, 231-238.

Woolfe, J. A. (1992). Sweet potato an untapped food resource. Cambridge/ Port Chester/Melbourne/Sydney: Cambridge University Press.

Zhang, P., & Whistler, R. L. (2002). Isolation of starch and hemicellulose from green bananas. Boston, MA: 224th American Chemical Society National Meeting.

Zoel K (1978). Separation with supercritical gases: pratical application, *angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 17, 702 – 709.